

429

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

---

Année 1962

T H E S E

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

BENMILOUD Moulai  
Né le 22 Février 1933

à

AIN-SEFRA

(Algérie)

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA FIXATION DE LA TRIODOTHY-  
RONINE MARQUEE à  $I^{131}$  par les ERYTHROCYTES

----

Président : M.

M. DEPARIS, Professeur



FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Année 1962

THESE

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

BENMILOUD Moulai

Né le 22 Février 1933

à AIN-SEFRA

(Algérie)

Présentée et soutenue publiquement le 10 Mai 1962

"Contribution à l'Etude de la fixation de la triiodothyronine marquée  
à I <sup>131</sup> par les érythrocytes"

----

Président : M. M. DEPARIS, Professeur

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1962

THÈSE

pour le

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR



(Algerie)

présentée et soutenue publiquement le 10 Mai 1962

contribution à l'étude de la fixation de la triiodothyronine marquée

par les érythrocytes

Président : M. M. DEBART, Professeur

# PROFESSEURS HONORAIRES

MM. Aubin (A.), Bénard (H.), Bulliard (H.), Cadenat (F.), Chabrol (E.), Champy (C.), Debré (R.), Gastinel (P.), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Lantuejoul (P.), Laroche (G.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Loeper (M.), Marion (G.), Mathieu (P.), Mocquot (P.), Mondor (H.), Monod (R.), Moreau (R.), Olivier (E.), Pasteur Vallery-Radot, Petit Dutailis, Richet (C.), Strohl (A.), Tanon (L.).

|                |                      |
|----------------|----------------------|
| DOYEN .....    | Léon BINET.          |
|                | Membre de l'Institut |
| ASSESEUR ..... | Jean VERNE.          |

## - PROFESSEURS

|                                                                         |                    |
|-------------------------------------------------------------------------|--------------------|
|                                                                         | MM.                |
| Anatomie .....                                                          | DELMAS (A.)        |
| Anatomie pathologique .....                                             | DELARUE (J.)       |
| Anesthésiologie .....                                                   | BAUMANN (J.)       |
| Biochimie médicale .....                                                | JAYLE (M.F.)       |
| Biochimie médicale (Prof. à titre personnel) .....                      | ETTORI (J.)        |
| Biochimie médicale (Prof. à titre personnel) .....                      | SCHAPIRA (G.)      |
| Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports .....           | CHAILLEY-BERT (P.) |
| Biologie médicale .....                                                 | FAUVERT (R.)       |
| Biologie médicale (Prof. à titre personnel) .....                       | BOURLIERE (F.)     |
| Cancérologie médicale et sociale .....                                  | BERNARD (J.)       |
| Clinique carcinologique chirurgicale (Necker) .....                     | REDON (H.)         |
| Clinique cardiologique (Broussais) .....                                | MOUQUIN (M.)       |
| { Beaujon .....                                                         | SICARD (A.)        |
| { Cochin .....                                                          | LEGER              |
| { Hôtel-Dieu .....                                                      | PATEL (J.)         |
| Cliniques chirurgicales { Pitié .....                                   | CORDIER (G.)       |
| { Saint-Antoine .....                                                   | GOSSET (J.)        |
| { Salpêtrière .....                                                     | MOULONGUET (P.)    |
| { Tenon .....                                                           | LORTAT-JACOB       |
|                                                                         | (J. L.)            |
| Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades) ..... | FEVRE (M.)         |
| Clinique chirurgicale orthopédique et réparatrice (Cochin) ...          | MERLE D'AUBIGNE    |
|                                                                         | (R.)               |
| Clinique de chirurgie cardio vasculaire (Broussais) .....               | GAUDART-D'AL -     |
|                                                                         | LAINES (F. de)     |
| Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laënnec) .....                 | MATHEY (J.)        |
| Clinique endocrinologique (Pitié) .....                                 | DECOURT (J.)       |
| Clinique de génétique médicale (Enfants-Malades) .....                  | LAMY (M.)          |
| Clinique gynécologique (Broca) .....                                    | FUNCK-BRENTANO     |
|                                                                         | (P.)               |



|                                                                 |                |
|-----------------------------------------------------------------|----------------|
| Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (St-Louis) ..   | DEGOS (R.)     |
| Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades) .....       | CATHALA (J.)   |
| Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard) .....       | MOLLARET (P.)  |
| Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Ste Anne)     | DELAY (J.)     |
| Clinique des maladies métaboliques (Necker) .....               | HAMBURGER (J.) |
| Clinique des maladies du sang (Broussais) .....                 | MARCHAL (G.)   |
| Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière) ....     | CASTAIGNE      |
| { Boucicaut .....                                               | LENEGRE (J.)   |
| { Broussais .....                                               | SOULIE (P.)    |
| { Cochin .....                                                  | JUSTIN-BESAN-  |
|                                                                 | CON (L.)       |
| Cliniques Médicales                                             | BROUET (G.)    |
| { Cochin .....                                                  | BARIETY (M.)   |
| { Hôtel-Dieu .....                                              | DREYFUS (G.)   |
| { Pitié .....                                                   | KOURILSKY (R.) |
| { St Antoine .....                                              |                |
| Clinique médicale d'hydrologie thérapeutique et climatologie    |                |
| (Bichat) .....                                                  | DEBRAY (C.)    |
| Clinique médicale propédeutique (Broussais) .....               | GENNES (L. de) |
| Clinique médico sociale du diabète sucré et des maladies de     |                |
| la nutrition (Hôtel-Dieu) .....                                 | DEROT (M.)     |
| Clinique de neuro-chirurgie (Pitié) .....                       | DAVID (M.)     |
| Clinique neurologique (Salpêtrière) .....                       | GARCIN (R.)    |
| Cliniques obstétricales                                         | LACOMME (M.)   |
| { Baudelocque .....                                             | MERGER (R.)    |
| { Foch (Suresnes) .....                                         | VARANGOT (J.)  |
| Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal) .....       | RENARD (G.)    |
| Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu) .....                     | AUBRY (M.)     |
| Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière) .....          | LELONG (M.)    |
| Clinique de pédiatrie et de puériculture (St-Vincent-de-Paul)   | MARIE (J.)     |
| Clinique de pédiatrie sociale (Enfants-Malades) .....           | BERNARD (E.)   |
| Clinique de pneumo phtisiologie (Laënnec) .....                 | MICHAUX (L.)   |
| Clinique psychiatrique infantile (Salpêtrière) .....            | COSTE (F.)     |
| Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin) .....     | DECHAUME (M.)  |
| Clinique stomatologique (Pitié) .....                           | ROUX           |
| Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard) .....           | LEMAIRE (A.)   |
| Clinique thérapeutique médicale (St-Antoine) .....              | COUVELAIRE     |
| Clinique urologique .....                                       | GIROUD (A.)    |
| Embryologie .....                                               | TUCHMANN-DU-   |
| Embryologie (Prof. à titre personnel) .....                     | PLESSIS (H.)   |
|                                                                 | SEZE (S. de)   |
| Histoire de la médecine et de la chirurgie (Lariboisière) ..... | VERNE (J.)     |
| Histologie .....                                                | TURPIN (R.)    |
| Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau) .....    | JOANNON (P.)   |
| Hygiène et médecine préventive .....                            | DEPARIS (M.)   |
| Hygiène et médecine préventive (Prof. à titre personnel) .....  | DESOILLE (H.)  |
| Médecine du Travail .....                                       |                |



Médecine légale .....  
 Microbiologie (Bactériologie et virologie) .....  
 Parasitologie .....  
 Parasitologie (Prof. à titre personnel) .....  
 Pathologie chirurgicale .....  
 Pathologie chirurgicale (Prof. à titre personnel) .....  
 Pathologie exotique .....  
 Pathologie expérimentale et comparée .....  
 Pathologie médicale .....  
 Pathologie respiratoire .....  
 Pathologie et thérapeutique générales .....  
 Pharmacologie .....  
 Pharmacologie (Prof. à titre personnel) .....  
 Physiologie .....  
 Physiologie (Prof. à titre personnel) .....  
 Physiologie (Prof. à titre personnel) .....  
 Physiologie et pathologie obstétricale .....  
 Physique médicale .....  
 Physique médicale (Prof. à titre personnel) .....  
 Radiologie médicale .....  
 Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale .....  
 Thérapeutique .....

MM.

PIEDELIEVRE (R.)  
 FASQUELLE (R.)  
 GALLIARD (H.)  
 BRUMPT (L. C.)  
 HUGUIER (R.)  
 LAURENCE (G.)  
 LAVIER (G.)  
 MERKLEN (F. P.)  
 MILLIEZ (P.)  
 TURIAF (F.)  
 BOUDIN (G.)  
 CHEYMOL (J.)  
 LEVY (Mlle J.)  
 BINET (L.)  
 BARGETON (D.)  
 PARROT (J.)  
 LEPAGE (F.)  
 DOGNON (A.)  
 DJOURNO (A.)  
 DESGREZ (H.)  
 OLIVIER  
 CONTE (M.)

PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS AGREGES ET MAITRES DE  
 CONFERENCES - AGREGES.

MM.

Anatomie .....  
 Anatomie pathologique .....  
 Anesthésiologie .....  
 Bactériologie .....

( CABROL (C.)  
 COUINAUD (C.)  
 OLIVIER (G.)  
 GAUTHIER-VILLARS  
 (Mlle P.) pr. s. ch.  
 BUSSER (F.)  
 GOYGOU (Ch)  
 ORCEL (L.)  
 PAILLAS (J.)  
 VOURC'H (G.)  
 BARBIER (P.)  
 CHRISTOL (D.)  
 TOURNIER (P.)







|                                | MM.                                                                                                                                                                                                                                                          |
|--------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ophtalmologie .....            | ( BREGEAT (P.)<br>SARAUX (H.)                                                                                                                                                                                                                                |
| Orthopédie .....               | ( JUDET (R.)<br>RAMADIER (J.)                                                                                                                                                                                                                                |
| Oto-rhino-Laryngologie .....   | DEBAIN (J.)                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Parasitologie .....            | CHABAUD (A.)                                                                                                                                                                                                                                                 |
|                                | ( BARCAT (J.)<br>BINET (J. P.)<br>CAUCHOIX (J.)<br>CHATELIN (C. L.)<br>DUBOST (Ch.)<br>DUBOST (Cl.)<br>FAUREL (J.)<br>FLABEAU (F.)<br>GERMAIN (A.)<br>LOYGUE (J.)<br>MERCADIER<br>PERROTIN (J.)<br>ROBERT (H.)<br>THOMERET (G.)                              |
| Pathologie chirurgicale .....  | SCHNEIDER (J.)                                                                                                                                                                                                                                               |
|                                | ( CROSNIER (J.)<br>HARTMANN (L.)<br>LOEPER (J.)<br>MAURICE (J.)<br>RICHEL (G.)                                                                                                                                                                               |
| Pathologie exotique .....      | ( AUSSANNAIRE (M.)<br>BOUR (H.)<br>BOUVIER (J.)<br>BOUVRAIN (Y.)<br>BRICAIRE (H.)<br>BRISSAUD (H.)<br>BROCARD (H.)<br>BUGE (A.)<br>CASTAIGNE (P.)<br>m. conf.<br>CATINAT (J.)<br>CONTAMIN (F.)<br>COURY (C.)<br>FREZAL (J.)<br>HOUSSET (E.)<br>LAROCHÉ (Cl.) |
| Pathologie expérimentale ..... |                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Pathologie médicale .....      |                                                                                                                                                                                                                                                              |



|                                |                                                                                                           |
|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Pathologie médicale .....      | ( LESOBRE (R.)<br>MAGREZ (C.)<br>NICK (J.)<br>PEQUIGNOT (H.)<br>pr. s. ch.<br>ROYER (P.)<br>WOLFROMM (R.) |
| Pédiatrie - Puériculture ..... | ( JOSEPH (R.)<br>MANDE (R.)<br>MOZZICONACCI (P.)<br>POLONOVSKI (C.)<br>ROSSIER (A.)                       |
| Pharmacologie .....            | ( BOISSIER (J.)<br>LECHAT (P.)                                                                            |
| Physiologie .....              | DEJOURS (P.)                                                                                              |
| Physique médicale .....        | ( GOUGEROT (L.)<br>m. conf.<br>pr. s. ch.<br>KELLERSHOHN                                                  |
| Pneumo phtisiologie .....      | KREIS (B.)                                                                                                |
| Psychiatrie .....              | PICHOT (P.)                                                                                               |
| Psychiatrie infantile .....    | DUCHE (D.)                                                                                                |
| Rhumatologie .....             | DELBARRE (F.)                                                                                             |
| Stomatologie .....             | ( CERNEA (P.)<br>CHAPUT (Mme A.)<br>m. c. agr.<br>GRELLET (M.)                                            |
| Thérapeutique .....            | ( CHASSAGNE (P.)<br>LAMOTTE (M.)                                                                          |
| Urologie .....                 | QUENU (L.)                                                                                                |



III- PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGREGES CHARGES DE COURS  
DE CLINIQUE ANNEXE à titre permanent.

|                                            | MM.                |
|--------------------------------------------|--------------------|
| Anatomie .....                             | DEBEYRE            |
|                                            | ( ABOULKER (P.)    |
|                                            | { AMELINE (A.) pr. |
|                                            | { s. ch.           |
|                                            | { HUGUIER (J.)     |
| Clinique chirurgicale .....                | { OLIVIER (C.)     |
|                                            | { PADOVANI (P.)    |
|                                            | { POILLEUX (F.)    |
|                                            | { ROUX (M.)        |
|                                            | { VERNE (J.M.)     |
|                                            | { DOMART (A.)      |
| Clinique médicale .....                    | { PERRAULT (M.)    |
|                                            | { RAMBERT (P.)     |
|                                            | { THIEFFRY (S.)    |
|                                            | { GRASSET (J.)     |
| Clinique obstétricale .....                | { MAYER (M.)       |
|                                            | { RAVINA (J.)      |
|                                            | { DESVIGNES (P.)   |
| Clinique ophtalmologique .....             | { OFFRET (G.)      |
| Clinique oto rhino-laryngologique .....    | MADURO (R.)        |
| Clinique pédiatrique et puériculture ..... | LAPLANE (R.)       |
| Clinique psychiatrique .....               | BARUK (H.)         |
| Clinique urologique .....                  | KUSS (R.)          |
| Médecine légale .....                      | GAULTIER           |

IV- PROFESSEURS DETACHES DANS LES UNIVERSITES ETRANGERES

|                               |                |
|-------------------------------|----------------|
| Bactériologie .....           | HAUDUROY (P.)  |
|                               | pr. s. ch.     |
| Pathologie chirurgicale ..... | RUDLER (J. pr. |
|                               | s. ch.         |



|                                               |                                                                                           |
|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| V- <u>CHARGES DE COURS D'HYGIENE SCOLAIRE</u> | { BOLTANSKI (E.)                                                                          |
| <u>ET UNIVERSITAIRE</u> .....                 | { LAUNAY (C.)                                                                             |
| Secrétaire général de la Faculté .....        | M. LENA (J.)                                                                              |
| Secrétaires .....                             | Mme BEURLAND (H.), Mlle<br>CHARENTREUIL (G.), Mme ROCHE<br>(L.)                           |
| Conservateur en chef .....                    | M. le Docteur HAHN (A.)                                                                   |
| Conservateur .....                            | Mlle DUMAITRE (P.)                                                                        |
| Bibliothécaires .....                         | { Mmes CONTET (J.), FORGET (F.)<br>{ Mlles LAURENT (H.), LE NOIR (G.)<br>{ QUIEVREUX (E.) |

-----



A MON PERE

---



Nous sommes profondément reconnaissant au U. S. Public Health (National Cancer Institute) et à la fondation Fulbright qui nous ont accordé une bourse d'études et une bourse de voyage, lesquelles nous ont permis d'accomplir ce travail.

Nous tenons aussi à exprimer notre gratitude à Monsieur le Professeur WEGRIA, Chef du Service de Médecine Interne à l'Ecole de Médecine de l'Université de Saint Louis, dont la haute bienveillance nous a accompagnés lors de notre formation post Universitaire.

A Monsieur le Docteur Georges THOMA, Chef de Service de radio-isotope de l'Université de Saint-Louis, dans les laboratoires duquel nous avons fait nos expériences. Ainsi qu'au Docteur K. M. WANG pour ses conseils.

Nous sommes infiniment reconnaissant à Monsieur le Professeur DEPARIS de nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Il nous est difficile de trouver les mots pour exprimer notre respect et notre admiration à Monsieur le Doyen BINET dont la bienveillante protection nous a suivis depuis notre première année à la Faculté de Médecine ; nous tenons à lui exprimer nos respectueux remerciements.



# S O M M A I R E

-----

## I- INTRODUCTION

## II- LE TRANSPORT des HORMONES THYROIDIENNES

- 1- Les Hormones Thyroïdiennes dans le sang
- 2- La T B P
  - a/- Méthodes utilisées pour l'étude de la TBP
  - b/- Identification et caractérisation
  - c/- Capacité de liaison de la TBP
  - d/- Facteurs modifiant la TBP dans le sang
  - e/- La TBP chez les autres espèces animales
  - f/- Signification physiologique de la TBP
  - g/- Conclusion

## III- FIXATION IN VITRO de la I (131) TRIODOTHYRONINE PAR les ERYTHROCYTES

- 1- Méthodes utilisées
- 2- Facteurs influençant le taux de fixation
- 3- Modification de la méthode utilisée dans notre travail
- 4- Résultats

## IV- REVUE DE LA LITTERATURE

## V- EFFETS IN VITRO de CERTAINS MEDICAMENTS

- 1- Technique
- 2- Résultats



## VI- DISCUSSION

- 1- Le Mécanisme
- 2- Valeur de cette épreuve en clinique
- 3- Comparaison avec les autres épreuves d'exploration thyroïdienne

## VII- CONCLUSION



## I - INTRODUCTION -

-----

La multitude d'examens de laboratoires utilisés pour l'exploration fonctionnelle de la thyroïde attestent de leur faillibilité comme instrument de diagnostic. Aux déterminations chimiques des taux Hormonaux se sont ajoutés de nombreux examens de laboratoire basés sur l'utilisation de l'iode radioactif. L'un des derniers nés, que nous nous proposons d'étudier, est actuellement utilisé dans les Pays Scandinaves et aux Etats Unis ; il s'agit de la fixation in vitro de la triiodothyronine marquée à l'iode I (131) par les érythrocytes. Il fut introduit en clinique pour la première fois par HAMOLSKY et ses collaborateurs (12). Cette épreuve est le résultat de l'immense progrès accompli pendant les dernières années dans l'étude du transport des hormones thyroïdiennes.

Elle est en effet basée sur la propriété qu'ont les érythrocytes de fixer dans un milieu plasmatique, l'excès d'hormones thyroïdiennes non liées aux protéines sériques. Ces quantités étant très petites, des hormones marquées à I (131) sont utilisées ; ce qui permet d'employer des mesures de radioactivité qui sont plus précises que les méthodes chimiques. La triiodothyronine (T3) a été choisie de préférence à la thyroxine (T4) ; car elle a moins d'affinité pour les protéines sériques et elle se fixe en plus grandes quantités sur les érythrocytes.

Un grand écart de temps s'est écoulé entre la découverte de la thyroxine par KENDALL en 1915 et la reconnaissance simultanée par GROSS PITT RIVERS (15) et ROCHE (16) en 1954, de la triiodothyronine



comme hormone thyroïdienne physiologique. A l'utilisation des nouvelles méthodes biochimiques telle que la chromatographie et l'électrophorèse s'est ajouté la possibilité de marquer les hormones avec I (131). Ceci a permis d'employer des doses physiologiques dans l'étude in vivo et in vitro de la biochimie thyroïdienne. Nous n'essayerons pas d'exposer les dernières données de la biochimie thyroïdienne, ce qui serait une entreprise qui sort du cadre de notre travail. D'ailleurs, ce sujet a été magistralement traité et remis à jour dans deux ouvrages récents de R. PITT RIVERS et J. R. TATA (3 - 4). Toutefois, il est nécessaire à la compréhension de l'étude qui va suivre de présenter d'une manière sommaire les théories présentes sur le transport des hormones thyroïdiennes par les protéines sériques. En plus des deux ouvrages cités (3-4), de nombreux articles ont été publiés la-dessus. Nous citerons seulement les revues les plus importantes : J. R. TATA (5), T. BERAUD (6), ROBBINS et RALL (7), INGBAR et FREINKEL (8) desquelles nous avons tiré la majeure partie de nos informations.

°  
° °



## II- LE TRANSPORT DES HORMONES THYROIDIENNES -

-----

### 1- Les Hormones Thyroïdiennes dans le sang :

Après de nombreuses années de discussion sur la nature des hormones thyroïdiennes dans le sang, les études chimiques et immunologiques amenèrent à la conclusion qu'à l'état physiologique, il n'existe pas de protéine iodée dans le sang.

D'une part, dans le plasma, l'hormone thyroïdienne était précipitée par un précipitant de protéine tel que l'acide trichloroacétique, d'autre part, la thyroxine (T4) n'était pas aussi active que l'extrait de glande. Ces deux faits suggéraient que l'hormone thyroïdienne circulait sous forme de polypeptides, qui auraient contenu T4 et des iodotyrosines. D'abord, ce fut TREVORROW en 1939 qui apporta quelques preuves de la similitude entre thyroxine et hormone circulante, quant à leur comportement avec les précipitants<sup>des</sup> protéines, la dialyse et l'extraction à l'éthanol. Puis LERMAN (10) prouva immunologiquement que la thyroglobuline n'était pas présente dans le sang à l'état physiologique. En 1948, TAUROG et CHAIKOFF (11) confirmèrent l'hypothèse de HARRINGTON (12) que la thyroxine était bien l'hormone circulante. Ils prouvèrent l'identité de comportement envers les précipitants<sup>des</sup> protéines et les solvants organiques d'une hormone endogène marquée à I (131), et de la thyroxine marquée exogène. Ceci fut confirmé par d'autres auteurs : LEBLOND et GROSS (13) et LAIDLAW (14). Par la suite on pouvait expliquer, à cause de l'existence de T3, que l'extrait de glande était plus actif que T4. L'opinion admise actuellement est que les hormones thyroïdiennes circulantes seraient la thyroxine et en quantité moindre la 3-~~5~~-3' triiodothyronine. Mais ceci n'est vrai qu'à l'état normal car dans certaines thyroïdites du type HASHIMOTO, après irradiation et chirurgie, la thyroglobuline a été détectée par de nombreux auteurs - PITT-RIVERS (17) après avoir décrit l'existence de T3 prove-



nant de la dégradation de T4, a reconnu qu'elle ne formait qu'une petite fraction. Une autre iodoprotéine ressemblant à la thyrogloguline mais dont le poids est dix fois plus petit, a été démontré chez des malades atteints de cancer de la thyroïde. Elle est appelée compound x (18-19) ou sérum S-1 iodoprotéine (20). Une iodoprotéine non extractible par le butanol a été trouvée aussi par DANOWSKI (21). Enfin, le taux de T3 peut être particulièrement élevé dans certains cas d'hyperthyroïdisme ou de cancer thyroïdien (22). Nous ne décrivons point ici les iodoprotéines existant dans les milieux liquidiens autres que le sang.

## II- La T B P

Depuis l'observation de TREVORROW (59), que T4 n'était pas dialysable et pouvait être précipitée en même temps que les protéines sériques, d'autres auteurs ont montré qu'elle était extractible par le butanol. Ceci menait à penser que l'hormone circulante était liée aux protéines plasmatiques. Ce lien, résistant à la dialyse ainsi qu'aux précipitants tels que l'acide trichloroacétique et à l'hydroxyde de zinc, pouvait être rompu par de grandes quantités de solvants organiques tels que l'alcool éthylique et le butanol qui dissolvaient aisément la thyroxine. Ceci permet la mise au point d'épreuves biologiques : iode lié aux protéines (PBI ou SPI) l'iode extractible par le butanol (BEI). La spécificité de ce lien fut démontrée en 1952 par GORDON et ses collaborateurs (23) qui montrèrent à l'aide de l'électrophorèse sur papier avec un tampon au véronal à pH 8,6 que la migration de la thyroxine radioactive dans le sérum se faisait avec les  $\alpha$  globulines les travaux ultérieurs montrèrent que c'était plus précisément entre  $\alpha$  1 et  $\alpha$  2, une petite partie se trouvant dans la zone de l'albumine. Cette fraction protéique est appelée généralement TBP "thyroxine binding protein" et parfois TBG "thyroxine binding globulin" bien qu'il ne soit pas certain qu'elle soit composée d'une fraction unique.



a/ - Méthodes utilisées pour l'étude de la TBP :

La méthode la plus courante, pour séparer et identifier la TBP est l'électrophorèse sur papier à pH 8,6 avec différents tampons. L'électrophorèse sur papier et sur colonne ont été aussi faites à pH 4,5. La TBP est plus acide que l'albumine, ce qui permet leur séparation.

Pour évaluer les propriétés de liaison d'une protéine, on peut ajouter à un sérum contenant T4 radioactive des doses progressivement accrues de T4 stable, l'électrophorèse permet de mesurer le déplacement de T4 radioactive, du site initial. On peut aussi ajouter du sérum à un échantillon saturé en T4 radioactive et mesurer l'affinité des différentes fractions protéiques, que l'on peut utiliser séparément dans l'échantillon initial. ROBBINS et RALL (24) ont modifié cette méthode en utilisant l'électrophorèse "reverse flow", qui immobilise l'albumine.

L'inconvénient principal de l'électrophorèse sur papier réside en la propriété qu'a le papier de lier les protéines. C'est pourquoi RICH et BEARN (25) ont utilisé l'électrophorèse sur gel d'amidon. Dans ces expériences, ils ont découvert que 60 % de T4 étaient liés à la fraction préalbumique.

TATA (26) a utilisé la propriété de désiodation transitoire de T4 en milieux aqueux pour étudier l'affinité des différentes protéines ; celles-ci ont en effet la propriété d'accélérer la réversibilité de la réaction ; l'inhibition de la désiodation étant directement proportionnelle à la capacité de liaison, elle est employée comme indice de l'affinité.

b/ - Identification et Caractérisation :

Les premières méthodes de purification de la TBP utilisèrent le fractionnement par le sulfate d'ammonium et la méthode 6 de COHN (27) ; la majeure partie des composés iodés furent trouvés dans la fraction IV



et V (c'est-à-dire à globuline et albumine). ROBBINS et ses collaborateurs montrèrent que la TBP ressemblait à l' $\alpha_2$  glycoprotéine de SCHMID (30) ainsi qu'à la M2 glycoprotéine de MEHL (31). FREINKEL montra que toutes les fractions précipitant après la fraction III avaient des propriétés de liaison, mais les plus riches étaient la fraction IV6 et IV9. Il a aussi enrichi la TBP en utilisant des résines échangeuses d'ions (DOWEXL). D'après ses travaux, la TBP est composée d'une ou plusieurs protéines de poids moléculaire inférieure à 50.000 et de point isoélectrique plus petit que pH 4,5. La TBP est probablement une glycoprotéine.

Dans des études plus récentes, utilisant l'électrophorèse sur papier à flot continu avec un tampon au barbital, ANDREOLI et FIACHI (32) ont montré qu'une large partie de la radiothyroxine se déplaçait dans la région préalbuminique. Ceci avait déjà été décrit par d'autres auteurs dans des sérums anormaux. INGBAR (33) le confirma en utilisant une solution tampon de trishydroxyméthylaminométhane et acide malique (tris-malate) à pH 8,6. Puis cela fut retrouvé dans de nombreux autres solutions tampons. Cette fraction est généralement appelée TBPA. L'électrophorèse sur gel d'amidon fut utilisé par d'autres auteurs ; certains retrouvèrent la TBPA d'autres des répartitions de type plus complexe. D'abord acceptée comme physiologique, la TBPA est maintenant le sujet de nombreux travaux dont les résultats sont contradictoires. Le principal argument contre sa présence, in vivo est le fait qu'à pH physiologique, il n'y a pas de fixation préalbuminique (34). Dans un article récent, TATA (35) montre par des études immunologiques utilisant la technique d'OUCHTERLONY que TBPA serait seulement une contamination de l'albumine par la TBP. Ceci serait confirmé par des études d'immunodiffusion et des mesures physico-chimiques.



c/- Capacité de liaison de la TBP :

La liaison de nombreux dérivés de la thyroxine par la TBP a été étudiée. L'affinité la plus grande est pour la thyroxine elle-même. LARSON et ALBRIGHT (36) trouvèrent que la d-thyroxine était liée moins fermement que la l-thyroxine, ceci est en contradiction avec les résultats de ROBBINS et RALL (37) qui ne trouvèrent aucune différence.

La capacité de liaison de T4 avec la TBP a été mesurée en augmentant le taux d'hormones endogènes à l'aide de T4 synthétique, on peut ainsi mesurer la quantité quittant la TBP. De nombreux travaux ont montré que chez des sujets Euthyroïdiens la TBP est saturée au tiers ; elle l'est moins chez les hypothyroïdiens et plus chez les hyperthyroïdiens (3).

Au-dessus d'une concentration de  $3 \times 10^{-7}$  M, T4 se fixe sur l'albumine, cette réaction étant d'ailleurs inversée par l'addition de TBP. L'albumine est plus difficile à saturer que la TBP, car elle est présente en plus grande abondance. La TBP fixe aussi T3 à un degré moindre que T4 ; de même, l'albumine est saturée plus aisément, déversant l'excès hormonal sur les autres globulines. Si l'on ajoutait T4, elle déplacerait T3.

Il existe donc un équilibre entre T4 libre et T4 liée à la ou aux protéines. Dans une note préliminaire LEIN (38) trouva deux modes de liaison entre T4 et l'albumine de sérum de boeuf : l'un comporterait quatre points de liaison, l'autre huit. Seul ce dernier serait présent à des concentrations inférieures à  $0,5 \times 10^{-4}$  M de T4. En fait, la valeur de cette liaison sur le plan physiologique est incertaine à cause du pH alcalin utilisé. En effet, TATA a montré qu'une augmentation du pH active la liaison de T4 avec de nombreuses protéines. ROBBINS et RALL (39) utilisant les données de LEIN ont calculé une constante de liaison pour TBP humaine et trouvé  $7,9 \times 10^9$ . Ceci étant un calcul théorique, basé sur plusieurs postulats, n'a qu'une valeur indicative, mais il permet d'avoir une idée de la quantité de T4 libre dans le sang, qui serait de l'ordre de  $3-9 \times 10^{-11}$ .



d/ - Facteurs modifiant la TBP dans le sang :

ROBBINS et RALL (39) ainsi qu'ALBRIGHT ont montré que la TBP des hypothyroïdiens était moins saturée, celle des hyperthyroïdiens plus saturée que celle des sujets normaux. Les premiers ont trouvé une augmentation de la concentration de la TBP chez les hyperthyroïdiens (41-42).

Les variations de PBI observées dans la grossesse par HEINMANN et ses collaborateurs (43) furent confirmées par la suite par DOWLING et son groupe (44-45) qui prouvèrent une augmentation de la TBP pendant la grossesse ; augmentation qui était absente en cas d'avortement spontané et que l'on retrouve chez les sujets des deux sexes traités au diethylstilboestrol. Ces travaux furent confirmés par d'autres auteurs.

De la même manière, il a été démontré que chez les néphrétiques il y avait une diminution de la TBP due à une perte de celle-ci dans les urines (47). ROBBINS et RALL (48) montrèrent qu'il n'y avait pas de différence qualitative dans la TBP, comme cela avait été rapporté par d'autres.

De nombreuses publications ayant trait aux variations de la TBP ont paru dans la littérature des dernières années. Certains auteurs (49-8) étudièrent la TBP et ne trouvèrent pas de variations qualitatives pendant la grossesse. Chez le nouveau-né, la concentration de la TBP est intermédiaire entre celle de la mère et de l'adulte normal (45-50).

Des <sup>va</sup> ~~obs~~ervations de la TBP chez des sujets normaux ont été aussi décrites ; dans une observation, le père et un de ses fils avaient tous deux une augmentation de la TBP (51-52).

Pendant les hépatites infectieuses et les cirrhoses des variations dans les deux sens ont été rapportées (53-54-55-56-57-58-59).



Nous ne nous étendrons pas sur les variations de la TBPA, puisque la signification physiologique de celle-ci n'est pas encore connue. D'autre part, l'effet de certains autres facteurs tels que les anticoagulants, le CO<sub>2</sub> seront étudiés en détail en relation avec la fixation de I (131) T<sub>3</sub> par les érythrocytes.

e/- La T B P chez les autres espèces animales :

De plus en plus d'informations ont paru sur la TBP dans différentes espèces, surtout chez les mammifères. Le singe (MACACUS RHESUS) a une TBP ressemblant étroitement à celle de l'homme (40). Chez les bovidés, moutons, porcs, chèvres et mulets, la migration de la TBP a lieu entre les zones  $\alpha_1$  et  $\alpha_2$ , mais avec des variations dans le type de liaison. Tous les autres animaux étudiés ont des TBP différentes. TATA et SHELLABERGER (61) ont montré que chez le poulet, la TBP était absente, T<sub>4</sub> étant principalement liée à l'albumine ; ce qui explique que dans cette espèce, T<sub>4</sub> et T<sub>3</sub> soient équipotentes, car l'affinité de l'albumine pour les deux hormones n'est pas très différente.

f/- Signification Physiologique de la T B P :

La signification des liaisons protéines-hormones est un sujet dont l'actualité est prouvée par la volumineuse littérature publiée là-dessus pendant ces dernières années ; il semble certain que ces liaisons ont une importance physiologique. Les protéines liantes seraient un moyen de transport pour les hormones. Il a été démontré (62-64) que dans certains cas, elles diminuent les effets physiologiques ou pharmacologiques. Ceci implique que la part active est celle qui est libre ou non liée. Ceci amena des tentatives de dérivation de la quantité d'hormone libre à partir de l'hormone liée : celle de ROBBINS et RALL (7) et de L. K. CHRISTENSEN (65). Ce dernier a trouvé chez des sujets normaux une radiothyroxine libre de 0.47-0,66 %



avec des valeurs plus élevées chez les hyperthyroïdiens, légèrement moins élevées chez les hypothyroïdiens et normale dans les néphrites et les grossesses. Cette théorie expliquerait aussi le métabolisme de base normal, malgré la PBI élevée chez les femmes enceintes ; en effet, celui-ci dépendrait de la thyroxine libre, qui, elle, est inchangée, alors que la PBI est élevée à cause de l'augmentation de TBP due à une augmentation générale des  $\alpha$  globulines (66)

On peut aussi expliquer la différence d'activité entre T3 et T4 par la liaison plus forte de cette dernière à la TBP. Ceci est confirmé par l'étude de la TBP chez le poulet cité plus haut et par le fait que jusqu'ici, aucune différence d'activité biochimique entre T3 et T4 n'a encore été décelé.

Des travaux de LISSITZKY (67-68) sur la désiodase des tissus, il ressort que la TBP tissulaire est en compétition avec cette enzyme pour lier les hormones. Tout cela mène à conclure que les relations entre les différentes protéines extra et intracellulaires produisent un équilibre complexe et contrôlent ainsi l'action physiologique des hormones thyroïdiennes.

#### g/ - Conclusion :

En conclusion, nous pouvons dire que les hormones thyroïdiennes circulantes sont T4 et T3. Elles sont unies dans le sang à une ou des protéines dont la mieux connue est la TBP, dont les caractéristiques sont les suivantes :

Poids moléculaire 50.000 environ point isoélectrique à pH 4-5.

Constante de sédimentation :  $S_{20w} = 3,3$

C'est vraisemblablement une glycoprotéine ; il a été suggéré, sans évidence valable, qu'un hydrate de carbone serait responsable de la liaison. Le nombre de points de liaison n'est pas connu.



Elle varie suivant les espèces, quantitativement et qualitativement. Chez l'homme, elle est modifiée dans certains états pathologiques et physiologiques. Elle a une importance physiologique certaine en tant que véhicule de transport et en tant que mécanisme régulateur de la quantité d'hormones libres, qui seules, seraient actives. Les valeurs calculées pour T4 seraient de  $3,9 \times 10^{-11}$ , à l'état libre sont 0,069 de la T4 totale du sérum. La constance d'association de la TBP avec T4 est de  $7,9 \times 10^9$ . L'affinité de T3 est le tiers de celle de T4, elle est moindre pour les autres dérivés thyroïdiques.

Au pH habituel, 8,6 utilisé dans les électrophorèses, il existe une liaison dans la zone préalbuminique. Mais la valeur de cette TBPA dans des conditions physiologiques est à présent le sujet de controverse. Il est plus vraisemblable que ce soit le résultat du pH 8,6 utilisé habituellement pour les études électrophorétiques.

°  
°   °



### III- FIXATION DE LA I (131) TRIODOTHYRONINE -

#### PAR LES ERYTHROCYTES

-----

Les études de la TBP à l'aide de l'électrophorèse furent accompagnées d'études de fixation de la radiothyroxine I (131) T4, et de la radiotriiodothyronine I (131) T3 par les systèmes cellulaires. HAMOLSKY (69) en 1955 montra que les érythrocytes fixaient plus aisément T3 que T4. Il montra aussi qu'en milieu plasmatique, les érythrocytes d'hyperthyroïdiens fixaient plus de I (131) T3 que ceux des sujets normaux. CRISPELL et son groupe (70-71) étudièrent le pouvoir de fixation par érythrocytes de T4 et T3, ainsi que l'influence de certains facteurs en particulier le plasma. Ils montrèrent que c'était un phénomène passif, non influencé par les fluorures ; ceci prouve qu'il ne s'agit pas ici d'une réaction engageant la respiration cellulaire. D'autre part, les membranes des érythrocytes, dans lesquelles tout processus respiratoire ou enzymatique est détruit, ont des propriétés semblables.

Puis HAMOLSKY et ses collaborateurs (1-2) utilisèrent cette propriété en clinique comme épreuve de fonction thyroïdienne. Utilisant un grand nombre de déterminations, il montra que la fixation in vitro par les érythrocytes de I (131) T3 était plus élevée chez les hyperthyroïdiens, moins élevée chez les hypothyroïdiens, modifiée dans d'autres conditions pathologiques. Ce travail fut suivi de nombreux autres articles par différents auteurs. Nous présenterons plus loin une revue de la littérature depuis la description originale jusqu'à Juin 1961.

#### I- Méthodes utilisées :

La méthode utilisée par HAMOLSKY était la suivante : 0, 1 ml d'eau salée isotonique contenant de 10 à  $120 \times 10^{-4}$   $\mu$ g I (131) T3 était



ajouté à 3 ml de sang héparinisé, oxalaté ou citraté dans un erlenmeyer. Celui-ci était bouché, puis incubé et régulièrement secoué à 37°, dans un bain-marie. Deux échantillons de 1 ml étaient pipetés, à la fin de l'incubation, dans des tubes. La radioactivité de ces tubes était mesurée à l'aide d'un crystal de scintillation, suffisamment longtemps pour que l'erreur soit inférieure à  $\pm 2\%$  ; les érythrocytes étaient séparées du plasma par centrifugation et lavées 5 fois avec 10 ml d'eau salée isotonique. Chaque centrifugation était de 10 minutes à 3.000 tours par minute. La radioactivité des érythrocytes était ensuite mesurée. Un hématocrite avait été préalablement déterminé.

La fixation de I (131) T3 par les érythrocytes était calculée en pourcentage de l'activité totale de l'échantillon initial et corrigée à un hématocrite de 100 % suivant la formule :

$$\% \text{ de fixation} = \frac{\text{activ. des Eryth.} \times 100}{\text{activ. du sang total}} \times \frac{100}{\text{Hémat.}}$$

Les échantillons en double ne devaient pas différer de plus de 3 %, sinon ils étaient écartés et l'épreuve répétée.

Cette méthode fut utilisée telle quelle par la plupart des autres chercheurs, mais certains la modifièrent.

FRIIS (73) utilisa du sang oxalaté ; au moyen de centrifugation de 10 minutes à 2.000 t.p.m. ; les érythrocytes étaient séparés du plasma, et lavés avec une solution A.C.D. (U.S.P. 15) à 3 ml d'érythrocytes lavés était ajoutée une quantité égale de plasma et 0.1 ml d'eau salée isotonique contenant 30-70 ml/mg de I (131) T3. Dans un erlenmeyer, le flacon était incubé à 37° et secoué régulièrement pendant deux heures. Deux échantillons



de 1 ml chacun étaient alors comptés, lavés trois fois avec 10 ml d'eau salée isotonique l'activité des érythrocytes comptée, le taux de fixation était ainsi calculé :

$$\% \text{ de fixation} = \frac{\text{activité des érythrocytes}}{\text{activité du sang total}} \times 100.$$

Quant à WOOLDRING (74), il utilisa la méthode de HAMOLSKY avec une incubation de 30 minutes seulement.

HLAD et ses collaborateurs (75) apportèrent les modifications suivantes : La I (131) T3 était diluée dans du Tris Malate ; après incubation, 1 ml de plasma était pipeté et son activité mesurée et comparée à celle du sang entier, cette technique supprimait les difficultés dues au lavage, mais nécessitait un pipetage beaucoup plus exact.

## 2 - Facteurs influençant le taux de fixation :

A cause des nombreuses difficultés rencontrées dans la standardisation de la méthode dans d'autres laboratoires, les facteurs qui pouvaient influencer cette épreuve furent étudiés. HAMOLSKY et son groupe (1-2) avaient déjà remarqué l'effet du temps d'incubation et de l'hématocrite. Ceci fut confirmé par FRIIS (73) ainsi que MEADE (76), nos résultats (fig. 1, 2) concordent avec les leurs : après une montée rapide pendant la première heure d'incubation, le pourcentage de fixation monte en pente plus douce presque en plateau. Quant à l'hématocrite, si, dans la zone physiologique (35-50), la variation est minime, elle devient fort importante en dehors de ces limites. Ceci avait poussé ADAMS et ses collaborateurs (77) à calculer en coefficient :

$$K = \frac{F (1-H)}{H (1-F)}$$



K est le coefficient de fixation.

F la radioactivité des érythrocytes exprimée en % de l'activité initiale.

H l'hématocrite.

A la radioactivité de l'échantillon de sang.

Ce coefficient est indépendant de l'hématocrite.

MEADE (76) étudia de plus l'effet du lavage et trouva que l'activité des érythrocytes était inversement proportionnelle au nombre de lavages, à la quantité et à la température d'eau salée utilisée, ainsi qu'au temps de lavage. De plus si l'on utilisait un nombre suffisant de lavages, on pourrait arriver à des fixations nulles. Notre propre expérience, à ce sujet, concorde en tout point avec celle de MEADE. Nous avons aussi utilisé des solutions 0,25 M de sccharose avec des résultats identiques. Ceci confirme une fois de plus que la fixation est un phénomène passif d'équilibre physico-chimique qui dépend seulement de la concentration en T3 libre. Il est donc avant tout nécessaire, pour obtenir des résultats reproductibles, d'utiliser une technique rigoureusement identique. Les limites des valeurs normales doivent être établies pour chaque laboratoire et peuvent varier d'un auteur à un autre comme nous le verrons plus loin.

Pour éviter les difficultés rencontrées dans le lavage, MITCHELL (78) et ses collaborateurs remplacèrent les érythrocytes par une résine échangeuse d'ion (AMBERLITE Ira-400) qu'ils équilibraient avec du sérum contenant I (131) T3 (0,05 <sup>pc</sup> ~~mc~~) et T3 stable (0,002-0,008 <sup>pc</sup> ~~mc~~). Les tubes étaient secoués pendant 30 minutes à la température du laboratoire. Il semble que dans cette méthode, la fixation ne serait pas inversement proportionnelle au nombre de lavages ; en fait après 3 lavages, il n'y aurait



plus de modification du taux de fixation. STERLING et TABACHNIK (78) utilisèrent la même résine avec une méthode quelque peu différente et eurent des résultats semblables. Il est toutefois difficile de juger l'utilité de cette épreuve tant qu'il n'y aura pas plus de publications sur ce sujet. D'ailleurs, la résine utilisée n'est pas encore accessible sur le marché commercial. Les laboratoires la produisant travaillent encore à l'améliorer ; certains chercheurs ont eu des variations de fixation dues à un manque d'uniformité de la résine.

En plus des variations dues à la technique elle-même, d'autres facteurs influencent la fixation de I (131) T3 par les érythrocytes ; Nous les étudierons en même temps que l'effet de certains médicaments.

### 3- Modification de la méthode utilisée dans notre travail :

Dans le travail personnel que nous allons exposer plus loin, nous avons utilisé deux méthodes légèrement modifiées qui, utilisées sur un même échantillon de sang, donnèrent des résultats concordant à 1 ou 2 % près.

#### Technique utilisée dans l'étude clinique :

5-10 ml de sang, d'adultes normaux ou de malades vus dans les consultations et les salles de l'hôpital universitaire, était prélevés dans des tubes contenant 25 mg de poudre d'oxalate de potassium ; 3 ml étaient pipettés dans des flacons Erlenmeyer de 50 ml, à bouchons de verre. A chaque échantillon était ajouté 0,01-0,001 <sup>µ</sup>g de solution de I (131) triiodothyronine.

Cette concentration était obtenue en diluant avec du trismalate (à pH 7,4) de la radiotriiodothyronine suspendue dans une solution de 50 % de propylène glycol. Les échantillons étaient incubés pendant deux heures à



37° secoués automatiquement. A la fin de l'incubation, un microhématocrite était déterminé et deux échantillons de 1 ml pipettés dans des tubes de centrifugeuses de 12 ml pourvus de bouchons de verre. La radioactivité était mesurée dans un puits à crystal (BAIRD ATOMIC). Après une centrifugation de 8 minutes à 2.300 T.P.M., le plasma était aspiré, puis les érythrocytes étaient lavés trois fois avec 10 ml d'eau salée physiologique. Entre chaque lavage la centrifugation durait 4 minutes. Après le dernier lavage, les érythrocytes étaient centrifugées pendant 8 minutes. L'eau salée était aspirée jusqu'à assèchement complet. Les échantillons étaient comptés de nouveau.

Le pourcentage de fixation des érythrocytes était calculé suivant la formule de HAMOLSKY :

$$\% = \frac{C \text{ p m E } \times 100}{C \text{ p m S } \times \text{total}} \times \frac{100}{\text{Hémato}}$$

CpmE = radioactivité des érythrocytes.

CpmS = radioactivité du sang total.

La seconde technique utilisée dans l'étude de l'effet in vitro de certains médicaments et du pH sur la fixation de I (131) T3 par les érythrocytes est semblable à celle-ci et deux échantillons de 0,5 ml pipettés et lavés avec 5 ml d'eau salée trois fois. Nous l'exposerons avec plus de détails plus tard.

Les échantillons en double dans les deux méthodes ne différaient jamais de plus de 2 % et en général de moins de 1 %. La méthode donnait des résultats reproductibles sur le sang d'un même sujet prélevé à plusieurs semaines d'intervalle. Le sang pourrait être conservé à tempéra-



ture du laboratoire sans modification du taux de fixation. Seulement, la présence d'hémolyse réduisait le pourcentage de I(131)T3 fixée.

La I(131)T3 était conservée à 4° et changée toutes les deux semaines. Des chromatographies sur papier suivant la technique de FRIIS et HALL (80), montrèrent qu'il n'y avait pas plus de 2 % d'iode I(131) libre dans la I(131)T3 commerciale. Ceci concordait avec les chromatogrammes fournis par le laboratoire. Si l'atridothyronine était conservée avec de l'albumine humaine à 1 %, elle pouvait être utilisée 3-4 semaines sans modification notable. Enfin, le trismalate était utilisé pour diluer la solution initiale, car il a été démontré que cette solution tampon empêche la fixation par le verre de la I(131)T3.

#### 4- Résultats :

Utilisant cette méthode, nous avons d'abord voulu étudier des sujets normaux : 50 adultes volontaires, tous en bonne santé, choisis parmi les étudiants en médecine et le personnel hospitalier, furent étudiés. Comme moyen de contrôle de leur état thyroïdien, en plus d'une anamnèse, une détermination de PBI fut faite sur chacun (les échantillons furent envoyés à un laboratoire commercial).

On peut voir dans les tableaux (I-II) les résultats chez les sujets de sexe masculin et féminin.

Chez les hommes, les taux de fixation variaient de 12,90 à 19 % avec un taux moyen de 15,8 %. La déviation standard était de 6,2 et une erreur standard sur la moyenne de 0,43.

Chez les femmes, les limites du taux de fixation étaient de 10,9 à 18,6 avec un taux moyen de 13,8 avec une déviation de 2,2 et une erreur standard sur la moyenne de 0,44.



Les limites normales ainsi établies, nous avons étudié une série de malades ayant des affections thyroïdiennes (tableaux III et IV); des femmes enceintes (tableau V), quelques urémiques (tableau VI) et un certain nombre de malades présentant des fixations thyroïdiennes de I(131) anormales, bien qu'il n'y ait pas d'autre évidence de désordre thyroïdien (tableau VII).

Chez les 14 sujets hyperthyroïdiens, le taux de fixation variait de 19,3 à 33 % (taux moyen : 25,7 %); l'élévation est donc très nette. Nous avons eu moins de succès chez les hypothyroïdiens :

Une seule malade, S., dont le diagnostic était confirmé cliniquement eut un taux de 10 %.

P., âgée de 20 mois et atteinte de crétinisme avait une fixation normale.

M., recevant depuis deux ans 125 mg de thyroïde, avait un taux de 16,6 %.

R., une hypopituitaire, dont la PBI était de 3,7 ~~mg~~ , avait un taux de fixation de 11,4 % (cette malade recevait la thyroïde et de l'A.C.T.H. et présentait des symptômes de toxicité dès que la PBI atteignait 5 mg.

Chez 10 femmes enceintes, le taux de fixation était compris entre 6,9 et 11,8 %, avec une moyenne de 9,1 %.

Le taux de fixation de 4 néphrétiques variait de 23,2 à 33,3 % (moyenne de 27,6 %).

J. et C., qui avaient été tous deux badigeonnés à l'iode avaient des taux de fixation normaux, confirmés par des PBI normales aussi, alors que la captation thyroïdienne de I(131) était très basse.

L., traitée pour une acidose diabétique, avec une légère atteinte rénale, avait une fixation de 30,5 %.

M., prenant 200 mg de thyroïde avait une fixation de 23 % alors que la captation thyroïdienne était à 3 %.



M., prenant 200 mg de thyroïde, avait une fixation de 23 % alors que la captation thyroïdienne était à 3 %.

D., atteinte de tumeur abdominale non diagnostiquée, avec une chute des globulines, avait un taux élevé à 22,7 %.

J., recevant 125 mg de thyroïde et dont la PBI était de 3,9g, la captation de 7 % avait une fixation de 18,7 %.

Une diabétique G., sans acidose ni atteinte rénale, eu une fixation de 22 % à deux reprises.

Deux malades présentant de la dysménorrhée (G. M. et B. C.), dont les PBI et les captations étaient normales, avaient toutes deux des taux diminués à 9,4 et 9,8 %.

L. B., addisonienne traitée et sous contrôle avait une fixation normale.

N. W., hyperthyroïdienne traitée au méthyl-mercapto-imidazol, cliniquement guérie, avait un taux normal.



# SUJETS NORMAUX

## I- FEMMES

|    | % T.fix. | P.B.I.<br>µg. | Hte % |
|----|----------|---------------|-------|
| MR | 11.2     | 6.9           | 43    |
| AK | 10.9     | 5.            | 40    |
| PF | 11.6     | 5.4           | 45    |
| ML | 12.6     | 6.2           | 38    |
| IM | 12.5     | 6.6           | 40    |
| MB | 13.5     | 5.7           | 41    |
| G  | 12.5     | 6.            | 40    |
| BL | 17.2     | 4.7           | 45    |
| AR | 13.2     | 4.9           | 37    |
| DS | 13.7     | 6.            | 38    |
| VR | 14.5     | 6.2           | 35    |
| HJ | 16.2     | 5.1           | 35    |
| ER | 12.3     | 5.5           | 42    |
| MR | 11.3     | 4.9           | 36    |
| TW | 12.4     | 5.6           | 37    |
| AM | 13.1     | 6.5           | 40    |
| ER | 11.1     | 5.8           | 35    |
| PB | 15.6     | 5.4           | 38    |
| UP | 17.5     | 5.4           | 39    |
| KL | 14.8     | 5.9           | 37    |
| WE | 13.5     | 5.2           | 41    |
| GT | 13.8     | 5.7           | 38    |
| CJ | 14.6     | 6.3           | 37    |
| VE | 13.5     | 5.2           | 41    |
| MD | 17.7     | 4.8           | 37    |
| FM | 18.6     | 5.3           | 37    |

## II- HOMMES

|    | % T.fix. | P.B.I.<br>µg. | Hte % |
|----|----------|---------------|-------|
| JC | 12.7     | 6.1           | 46    |
| FC | 13.1     | 5.9           | 42    |
| DE | 14.2     | 4.8           | 43    |
| MB | 17.2     | 5.            | 48    |
| RD | 16.2     | 5.1           | 43    |
| JW | 13.8     | 5.            | 43    |
| CD | 12.      | 6.1           | 47    |
| SD | 14.8     | 7.1           | 43    |
| AV | 13.4     | 5.5           | 41    |
| CI | 13.8     | 5.7           | 44    |
| CS | 15.3     | 4.9           | 40    |
| HZ | 16.3     | 6.6           | 40    |
| FE | 16.7     | 5.5           | 43    |
| AG | 14.5     | 5.9           | 43    |
| MH | 15.3     | 4.6           | 39    |
| AH | 13.6     | 6.6           | 45    |
| WD | 13.4     | 6.5           | 44    |
| GR | 15.7     | 6.            | 47    |
| RR | 19       | 5.6           | 39    |
| DD | 14.7     | 6.7           | 46    |
| BR | 18.5     | 5.7           | 40    |
| GW | 16.9     | 4.9           | 42    |
| ED | 17.7     | 4.            | 45    |



III - HYPERTHYROIDIENS

|     | % T.fix. | P.B.I.<br>μg | C.T.I. |
|-----|----------|--------------|--------|
| PS  | 31,9     | -            | 83     |
| ME  | 24,9     | -            | 93     |
| OHM | 21.8     | 13           | -      |
| VT  | 23.6     | -            | 78     |
| SV  | 24.2     | 15.2         | 85     |
| AF  | 20       | 11.5         | -      |
| BR  | 28.8     | -            | 63     |
| DH  | 30.7     | 14.8         | -      |
| CS  | 24.8     | 7.9          | 40     |
| AS  | 31.      | -            | 60     |
| RM  | 18.3     | 8.6          | -      |
| BE  | 33.      | 10.3         | 43     |
| BS  | 24.      | 14.4         | 6.     |
| GR  | 22.      | 10.8         | -      |

VII - CAS DIVERS

|    | % T.fix. | P.B.I.<br>μg | C.T.I. |
|----|----------|--------------|--------|
| JI | 17.      | -            | 5.     |
| CC | 16.6     | -            | 4.     |
| LN | 30.5     | -            | 11     |
| MB | 23       | -            | 3.     |
| DL | 22.7     | 5.8          | 4.     |
| GA | 22.      | 4.8          | 15.    |
| GM | 9.8      | 5.3          | 13     |
| BC | 9.4      | 6.7          | 13     |
| LB | 17.2     | -            | 18     |
| NW | 10.7     | -            | -      |
| JN | 7.       | 3.9          | 18.7   |



HYPOTHYROIDIENS IV

|    |      |     |    |
|----|------|-----|----|
| MS | 10.  | -   | 4. |
| CA | 12.  | 3.5 | 6. |
| PP | 13.4 | 1.7 | 13 |
| MI | 16.8 | 4.4 | 2. |
| RR | 11.4 | 3.7 | -  |

P. B. I. = NORMAUX de 4.5 à 8.5 ug

C. T. I. = Captation Thyroïdienne

de  $^{131}\text{I}$  à 6 h.

NORMAUX de 7 à 25 %.

GROSSESSE V

|     | % T. fix. |
|-----|-----------|
| MG  | 11.8      |
| SJ  | 10.       |
| VR  | 6.9       |
| EK  | 8.8       |
| EB  | 7.4       |
| FW  | 9.7       |
| CS  | 7.6       |
| RW  | 9.5       |
| JAS | 10.1      |
| OG  | 9.4       |

UREMIE VI

|    | % T. fix. |
|----|-----------|
| MA | 23.2      |
| CD | 33.3      |
| EH | 24.5      |
| HA | 28.7      |



#### IV- REVUE DE LA LITTERATURE -

-----

HAMOLSKY (1-2) étudia une série de 2.900 sujets : Des résultats reproductibles furent obtenus avec du sang non stérile, conservé dans le réfrigérateur pendant 7 jours avec du sang stérile conservé jusqu'à 32 jours. L'hématocrite n'avait aucune influence sur le taux de fixation dans des limites de 30 à 55 ; en dehors de ces limites, le sang était réajusté à un hématocrite normal. Dans une série de 300 fixations successives, les différences entre les doubles variaient de 0,0 à 1,6 % avec une moyenne de 0,6 %.

Femmes normales : 1.301 déterminations sur 1353 étaient situées entre 11 et 17 % (moyenne 13,9 %). Une fixation inférieure à 11 % fut trouvée dans trois cas (0,2 %) et plus grande que 17 % dans 49 cas (3,6 %).

Hyperthyroïdiennes : dans 211 cas, les fixations étaient de 17 à 35 % (moyenne : 22,5 %) deux sujets avaient des fixations inférieures à 17 %. L'une d'entre elles après retour à la normale avait une fixation = 9 %.

Hypothyroïdiennes : 129 déterminations étaient comprises entre 6,1 et 11 %. Un sujet avait une valeur de 11,1 %.

Hommes normaux : 566 preuves donnèrent des fixations entre 11,8 et 19 % (moyenne 15,2 %) dans 24 cas, le taux était supérieur à 19 %.

Hyperthyroïdiens : 64 sujets avaient des taux de fixation de 19,5 à 37,9 % (moyenne 23,7 %) 2 épreuves (3 %) étaient inférieures à 19,5 %.



Hypothyroïdiens : 65 fixations de sujets hypothyroïdiens variaient de 5,5 à 11,6 % avec une moyenne de 9,7 %.

Bien que l'épreuve soit distinctement diagnostique dans cette série, il n'y avait aucune corrélation entre la fixation érythrocytaire et le métabolisme de base, la PBI ou la captation thyroïdienne de I (131) à 24 heures.

Effet du traitement sur l'hyperthyroïdisme : 76 hyperthyroïdiens furent suivis pendant et après traitement à l'iode, le propylthiouracil, l'iode radioactif et la chirurgie. Dans 4 cas, la fixation de I (131) T3 resta à des taux d'hyperthyroïdie près d'un an après l'obtention d'un état euthyroïdien (3) et hypothyroïdien (1). Dans les autres cas, la corrélation était excellente. L'administration de propylthiouracil produisait souvent des chutes des taux de fixation 24 à 48 heures après l'administration, avant même l'amélioration clinique. Si le taux ne tombait pas après une semaine, cela était signe d'une faillite probable de la thérapie. De même, dans les cas postchirurgicaux ou après traitement à l'iode radioactif, une persistance d'un taux élevé, s'accompagnait toujours d'une persistance de l'hyperthyroïdisme.

Si le taux atteignait des niveaux hypothyroïdiens, cela était signe en général que le malade avait été surtraité ; il semble que les indications données par l'épreuve de fixation étaient plus précoces que celles données par les autres examens de laboratoire.

Effet du traitement sur l'hypothyroïdisme : 41 sujets hypothyroïdiens traités avec de l'extrait thyroïdien, de la l-T4 ou de la l-T3 furent aussi suivis. La corrélation était excellente entre l'activité thyroïdienne et les taux de fixation. L'épreuve semble intéressante, surtout lorsque la l-T3 est utilisée, car dans ces cas, la PBI est toujours basse.



Effet de l'iode exogène : 107 sujets, ayant absorbé de l'iode organique sous forme quelconque, seulement 4 montrèrent une augmentation légère du taux de fixation.

Dans 42 cas, des épreuves de fixation furent faites avant et après l'ingestion, sans variation, alors que la PBI étaient très élevées et les captations thyroïdiennes de I (131) diminuées. L'administration d'iode produisait une chute chez les hyperthyroïdiens, tandis que chez les sujets normaux, il en fallait de grosses quantités.

Effet de la grossesse et des oestrogènes : le taux de fixation était constamment diminué depuis la troisième semaine de grossesse jusqu'à une ou deux semaines après l'accouchement. La chute était à son maximum de la 6ème à la 7ème semaine. Dans 6 grossesses, la fixation resta normale, elles furent toutes suivies d'avortement. Il y avait aussi une chute chez les sujets des deux sexes traités avec des oestrogènes, mais point après administration de cortisone ou de gonadotrophines chorioniques.

Effet des anticoagulants : des augmentations de taux de fixation furent observées chez 53 sujets dans une série de 66 malades traités au dicoumarol. Dans certains cas, observés plus longtemps, un retour à la normale suivait l'interruption du traitement ; 2 cas traités au tromexane et 2 autres à la phenylindandione se comportèrent de la même manière.

Effet de différents facteurs : le taux de fixation était constamment élevé dans les néphrites et fréquemment dans les désordres hépatiques, ainsi que dans les cancers avec métastases et chez 8 malades atteints d'insuffisance respiratoire chronique (avec rétention de CO<sub>2</sub>).



L'effet de CO<sub>2</sub> fut confirmé en utilisant durant l'incubation des erlenmeyers bouchés et non bouchés, contenant du sang d'un même sujet ; ainsi qu' en pompant du CO<sub>2</sub> dans les erlenmeyers pendant l'incubation. Alors que CO<sub>2</sub> augmente le taux de fixation, la présence d'oxygène produit une chute de celui-ci.

KURLAND (81) travaillant avec le groupe de HAMOLSKY étudia des sujets atteints de tachycardies et arythmies paroxystiques. Parmi 18 sujets de sexe mâle, 8 avaient des taux supérieurs à 18,5 % ; parmi 21 femmes, 7 avaient des taux hyperthyroïdiens. Alors que tous les autres paramètres thyroïdiens étaient normaux.

De plus, des expériences d'entrecroisement de plasma d'un sujet normal avec les érythrocytes d'un hyperthyroïdien prouvèrent que le taux de fixation dépendait du plasma et non des érythrocytes.

Le travail original de HAMOLSKY fut confirmé par d'autres auteurs (82-83-84) dans des publications résumées. URELES et MURRAY (85) utilisèrent la même méthode à l'exception de l'utilisation de ballons volumétriques. Leurs taux normaux étaient compris entre 11,5 et 18 %. Leurs résultats concordaient avec ceux de HAMOLSKY, mais ils trouvèrent des élévations plus persistantes chez les hyperthyroïdiens traités, et notèrent des élévations dans certains cas de décompensation cardiaque.

ROBBINS (86) trouva des valeurs de 10,1 à 23 % avec un taux moyen de 16,3 % chez les hommes et 14,3 % chez les femmes ; les résultats chez les malades hyper ou hypothyroïdiens, s'ils montraient plus d'empiètement sur les limites normales, n'en n'étaient pas moins statistiquement significatifs.



Toutefois, chez les hépatiques, les taux étaient normaux ou diminués (2 cas).

CRIGGLER et ses collaborateurs (87) en collaboration avec HAMOLSKY étudièrent 630 enfants de tout âge ; le taux normal était de 10,7 et 17,6 %, les hypothyroïdiens entre 6 et 9,8 % et les hyperthyroïdiens 15,8 à 27 %. En contradiction avec ce qui se passe chez l'adulte, ils trouvèrent des taux faussement diminués chez 50 % des enfants traités avec 1-T3.

FRIIS (73) utilisait une méthode différente que nous avons déjà décrite ; il trouva des taux variant entre 6 et 10,5 avec une moyenne de 8,49 % chez les femmes et de 8,16 % chez les hommes (on remarque dans ce cas qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes). Les résultats concordent avec ceux déjà publiés, mais avec un pourcentage plus élevé d'épreuves faussement négatives (45 % chez les hyperthyroïdiens et 50 % chez les hypothyroïdiens). Toutefois, la série est bien plus petite que celle étudiée par HAMOLSKY.

FRIIS confirma aussi que le taux de fixation dépendait du sérum en répétant les expériences d'entrecroisement de HAMOLSKY et en diluant progressivement le sérum. Il montra aussi que l'addition in vitro de T3 et T4 stable n'influait la fixation qu'à des concentrations supérieures à 3-0, 2 mg de 1-T3 et de 30 mg % ml de T4.

AGNEW (88) arriva à des conclusions semblables, mais remarqua une élévation due au PAS. CARR et ses collaborateurs (89) publia aussi une étude d'une série limitée sur le taux de fixation chez les hyperthyroïdiennes enceintes chez lesquelles il était plus élevé que chez les femmes normales enceintes.



WOLDRING (74) trouva en plus des résultats déjà constatés, des taux élevés chez les diabétiques en acidose, avec retour à la normale après correction, ainsi que chez les urémiques sans néphrose.

MEADE (76), comme nous l'avons déjà dit, dans une courte communication exposa les variations dues à la méthode de lavage à l'hématocrite etc .....

ADAMS (77) pour supprimer les erreurs dues aux variations d'hématocrites, introduisit un coefficient de fixation indépendant de ce dernier. Le coefficient normal variant de 0,1 à 0,8 ; de plus, le coefficient moyen était semblable chez les sujets de sexe masculin et féminin. Ceci prouve que les différences entre les deux groupes, observées avec la méthode de HAMOLSKY étaient bien dues à la différence de l'hématocrite moyen, plus élevé chez les hommes que chez les femmes.

BARRETT et ses collaborateurs (90-91) étudièrent l'effet de désordres hématologiques, avec anomalie érythrocytaire. Les malades choisis n'avaient, en aucun cas, de désordres thyroïdiens. Les valeurs normales variaient entre 10,58 et 18,34 %. 3 sujets, ayant le trait de sicklémie avaient des taux normaux. Un malade, atteint de la sicklémie, l'autre de la thalassemie et 3 ayant le trait de thalassemie, étaient normaux.

Deux cas atteints d'anémie hémolytique et leucémie, avaient des taux élevés, malgré l'hématocrite très bas. Deux cas d'anémie hémolytique, associé à la maladie de HODGKIN, étaient normaux ; alors qu'un malade avait un taux normal, un autre avec une maladie hémolytique congénitale avait un taux élevé. Parmi 8 sujets <sup>avec</sup> polyglobulie essentielle, 6 avaient des taux élevés que l'hématocrite ne suffisait pas à expliquer.



SPAFFORD et ses collaborateurs (92) étudièrent la fixation de I (131) T3 par les érythrocytes, du sang de la corde ombilicale de 80 nouveaux nés, et trouvèrent le taux moyen de 9,9 %. Le taux moyen de 8 mères à l'accouchement était de 7,0 %. Le taux de la fixation augmenta jusqu'à 19,1 %, le second jour de la vie extra utérine, retomba à 11,6 % le 5ème jour et atteignit 14,3 % le 7ème jour.

Ils suggèrent que cette épreuve est plus pratique à utiliser chez les nouveaux nés, pour la détection de crétinisme.

YOUNG et ses collaborateurs (92) publièrent aussi une étude, qui, dans ses points principaux concorde avec celles qui précèdent.

WALFISH et ses collaborateurs (93) étudièrent 240 sujets et trouvèrent 89 % des hyperthyroïdiens au-dessus des taux normaux (12,5 à 18,5 %), et 77 % des hypothyroïdiens au-dessous. Ils confirmèrent les résultats trouvés par d'autres auteurs ; de plus, utilisant le coefficient d'ADAMS, ils ne trouvèrent aucune amélioration des % de taux corrects, excepté dans 5 cas dont les hématokrites étaient en-dehors des limites de 30 à 40 %.

FRIIS et KRISTENSEN (95) étudièrent 25 malades atteints de pyonéphrite avec des degrés variables d'urémie. Des taux élevés furent trouvés dans 20 cas de bronchite chronique et dans 20 cas d'urémie. Des épreuves d'entrecroisement prouvèrent que la diminution de la TBP dans le sérum était responsable de ces élévations. Il semble que le taux de fixation soit inversement proportionnel à la saturation en oxygène et directement proportionnel à la pression partielle en CO<sub>2</sub>.

Dans le cas des urémiques, il semble que la relation la plus directe fut avec la créatininémie.



Aucun rapport direct ne fut trouvé entre l'acidose et le taux de fixation.

OPPENHEIMER et ses collaborateurs (96) utilisèrent cette épreuve chez des malades traités à la diphenylhydantoïne dont les PBI étaient très basses. Le taux de fixation chez ces sujets atteignait des valeurs d'hyperthyroïdie.

Nous citerons pour mémoire deux autres publications (136-137) de SCHUMACKER et ses collaborateurs et WAGNER et ses collaborateurs, dont les résultats sur des séries moyennes, concordent avec les résultats des autres chercheurs.

Enfin, De Gennes et collaborateurs (138) ont aussi utilisé cette épreuve d'exploration avec des résultats comparables à ceux déjà cités.



## V- EFFETS IN VITRO DE CERTAINS MEDICAMENTS -

-----

Comme nous l'avons vu auparavant, HAMOLSKY (1-2) avait décrit des variations dues aux anticoagulants, aux oestrogènes, ainsi qu'à l'hématocrite. Ceci avait été confirmé par MEADE (76) qui rapporta la variabilité due à la technique de lavage. OPPENHEIMER (96) décrit l'effet de la diphenylhydantoïne sur la PBI et la fixation par les érythrocytes de I (131) T3. LEE et ses collaborateurs ont étudié les variations du taux de fixation dues à des variations de pureté de I (131) T3 utilisée. Nous avons observé des variations déjà décrites, dues au temps d'incubation à l'hématocrite et au nombre de lavages. Nous avons aussi utilisé du tétraacétate de diéthylamine comme anticoagulant sans modification notable des résultats. Nous avons essayé des incubations en flacons bouchés et non bouchés ; il y avait une diminution très nette, si les érythrocytes étaient incubés avec du plasma (de 13 à 7,5 %), alors qu'il n'y avait pas de différence notable (79 et 80,5 %), si les érythrocytes étaient incubés avec de l'eau salée isotonique. Ceci prouve que l'oxygène agit sur le plasma.

### 1- Technique :

Une étude plus complète fut faite sur l'effet de certains médicaments et du pH en employant la méthode suivante : 10 ml de sang humain frais, provenant de sujets normaux et contenant de l'oxalate de potassium, furent utilisés pour chaque expérience. Quatre échantillons de 2 ml étaient pipetés dans des erlenmeyers (50 ml). A chaque échantillon, 0,01 à 0,001 <sup>µ</sup>g de I (131) T3 obtenu par dilution avec du trismalate (pH, 7,4) de la radiotriodothyronine commerciale.



Un erlenmeyer était utilisé comme contrôle ; aux autres furent ajoutées 3 concentrations différentes d'un médicament dilué dans de l'eau salée physiologique. La quantité ajoutée était toujours inférieure à 0,1 ml.

Les échantillons étaient incubés dans un bain-marie à 37° et secoués automatiquement pendant une heure. Un microhématocrite était mesuré à la fin de l'incubation. Deux échantillons de 0,5 ml étaient pris de chaque erlenmeyer et transférés dans des tubes de centrifugeuses à bouchon de verre (12 ml). Ils étaient comptés à l'aide d'un crystal à scintillation (BAIRD ATOMIC). Les érythrocytes séparés du plasma étaient lavés trois fois et recomptés.

Le taux de fixation était calculé suivant la formule de HAMOLSKY.

Les médicaments utilisés ont été choisis, soit à cause de leur effet bien connu sur la PBI et l'épreuve de fixation de I (131) T3 pour les érythrocytes, soit parce qu'ils étaient des médicaments employés couramment qui se fixent sur les protéines sériques. Les concentrations utilisées sont comprises dans les limites du taux sanguin physiologique du médicament en cause (98-104). Toutefois, pour le sodium de WARFARIN et la diphenyhydramine, la concentration maximum choisie était équivalente à celle produite par la dose intra veineuse, car nous n'avons pas trouvé dans la littérature de références à ce sujet.

Le pH était ajusté avec une solution tampon au phosphate de soude (pH 4,5) pour les niveaux acide et du carbonate de soude (0,05 N) pour les niveaux alcalins.



## 2- Résultats :

Un total de 41 expériences furent faites, le taux moyen de fixation sur les contrôles était de 16,8 % avec un écart type de 2,91 %.

Dans la fig. 3, on peut voir l'effet de la variation du pH de 7 à 8. Dans un cas, un sujet hyperthyroïdien dont le taux était de 25 % fut ramené à un pH de 14,8 % à pH 8.

Dans les fig. 4-5, l'augmentation du taux de fixation due à la phenylbutazone est très marquée (bien au-dessus de deux fois l'écart type).

Figure 6-9, un effet très léger ou nul de l'hydrocortisone, de la tétracycline, du chlorothiazide et de l'urée.

On peut voir dans les figures 10 à 14, l'effet très léger de la phenylindandione, de la Warfarin, de l'oestrone, du phenylacetate de testosterone, diphenyhydramine. La concentration la plus forte provoque une élévation de l'ordre d'une déviation standard. Mais au-dessus des niveaux physiologiques, la Warfarin (100 à 200 mg par ml) produit une augmentation très nette.

Enfin, dans la fig. 15 (a, b), on peut voir l'effet additif de la combinaison de 4 médicaments.

L'addition de médicaments à des érythrocytes incubés dans de l'eau salée physiologique ne produisait aucune élévation.

D'autre part, le pH du sang après addition de salicylate-phenylbutazone, etc... fut mesuré avec une électrode de verre, les variations étaient très minimales (de 7,4 à 7,5).



TAUX DE  
FIXATION  
EN %

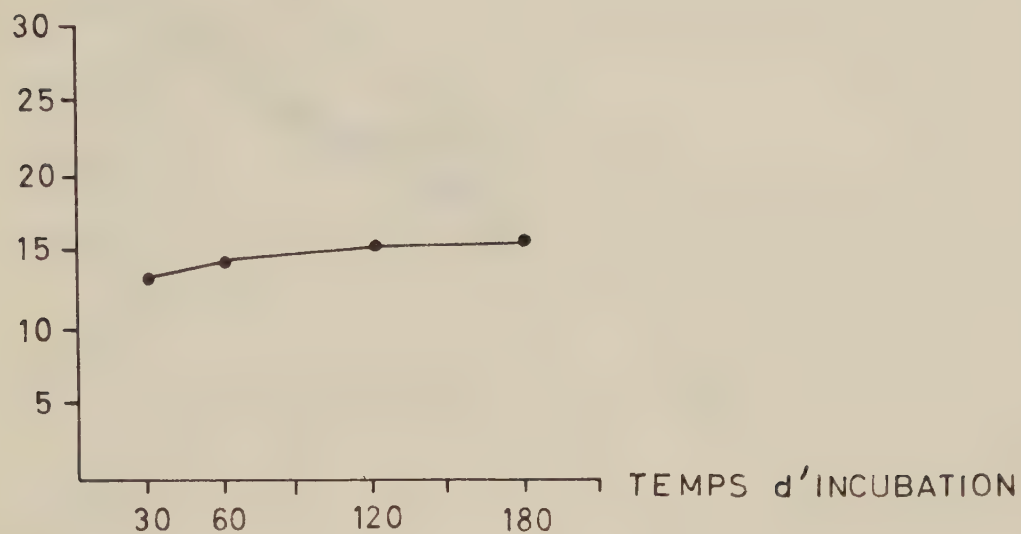


Fig. 1

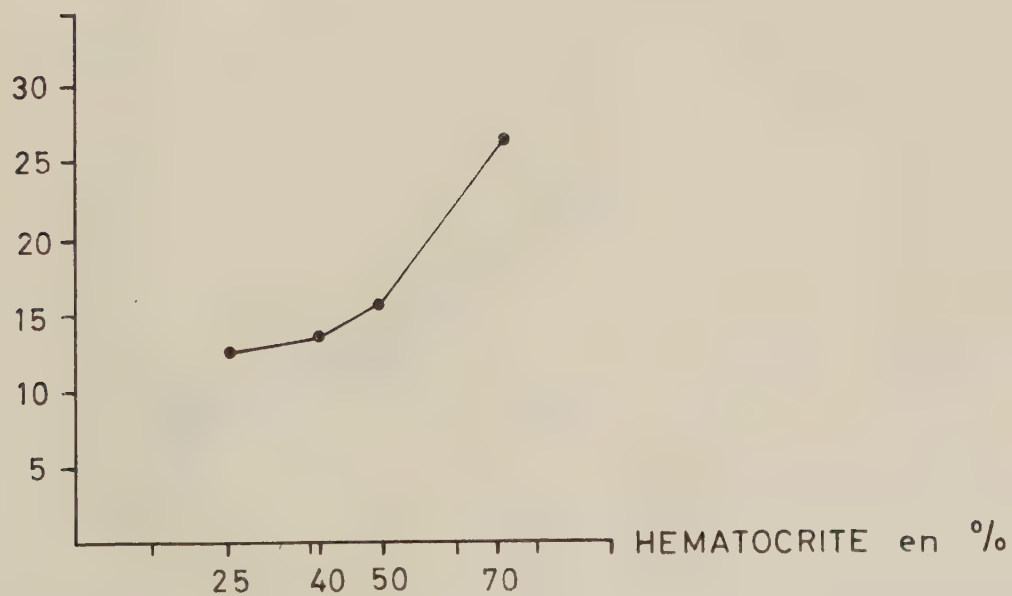


Fig. 2



TAUX DE  
FIXATION  
EN %

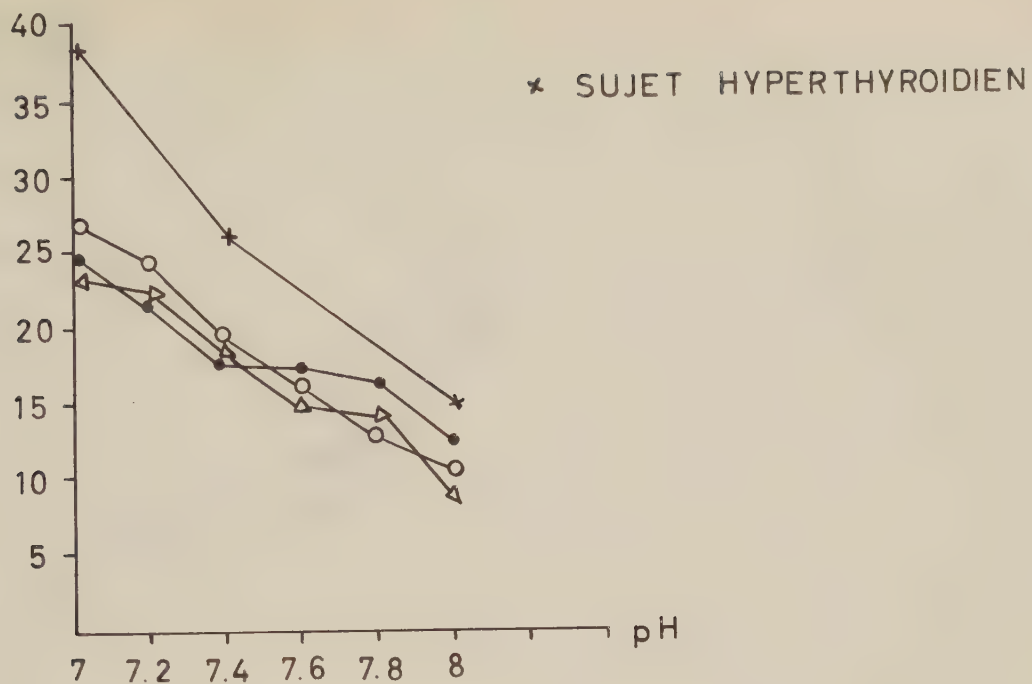
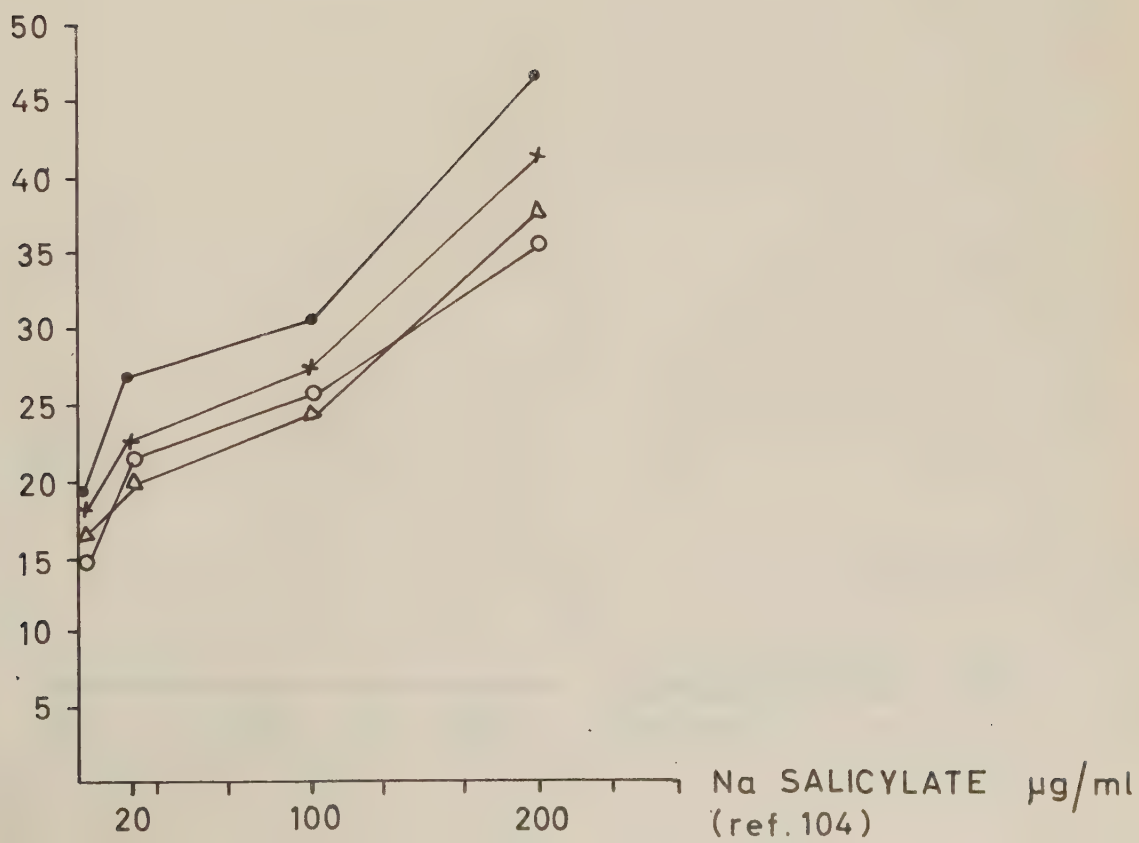


Fig. 3





TAUX DE  
FIXATION  
EN %

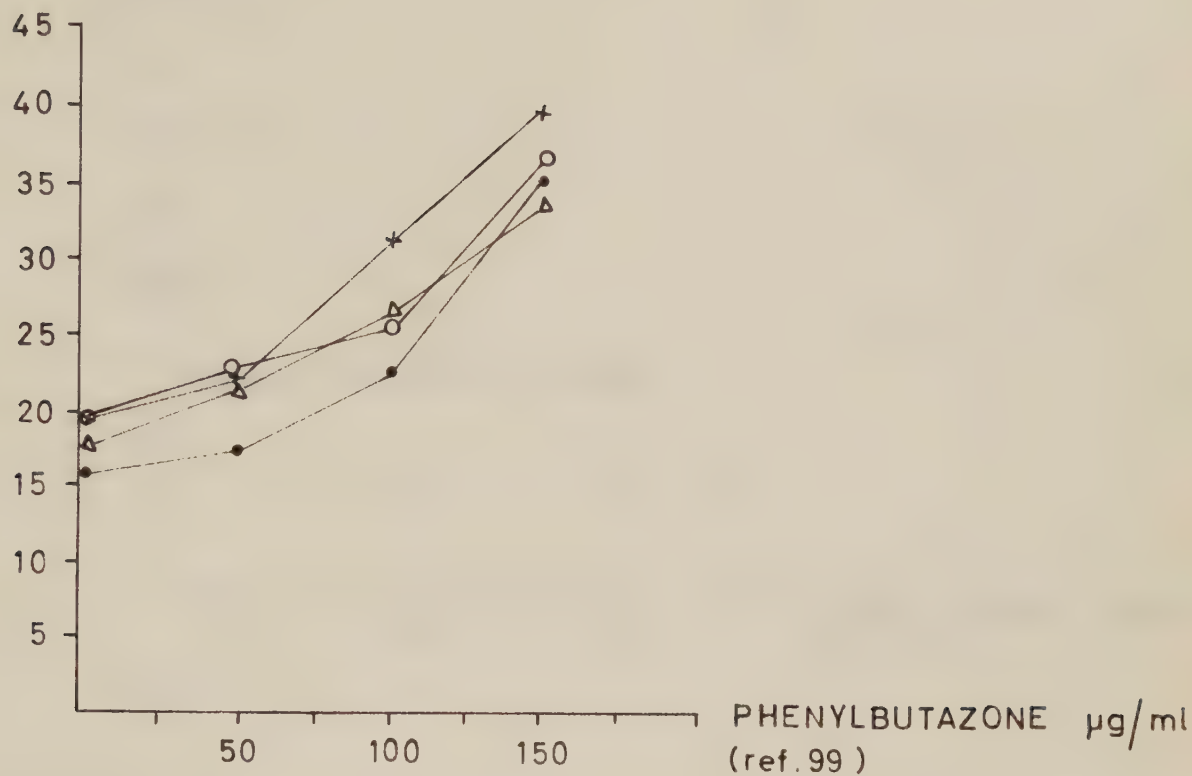


Fig. 5

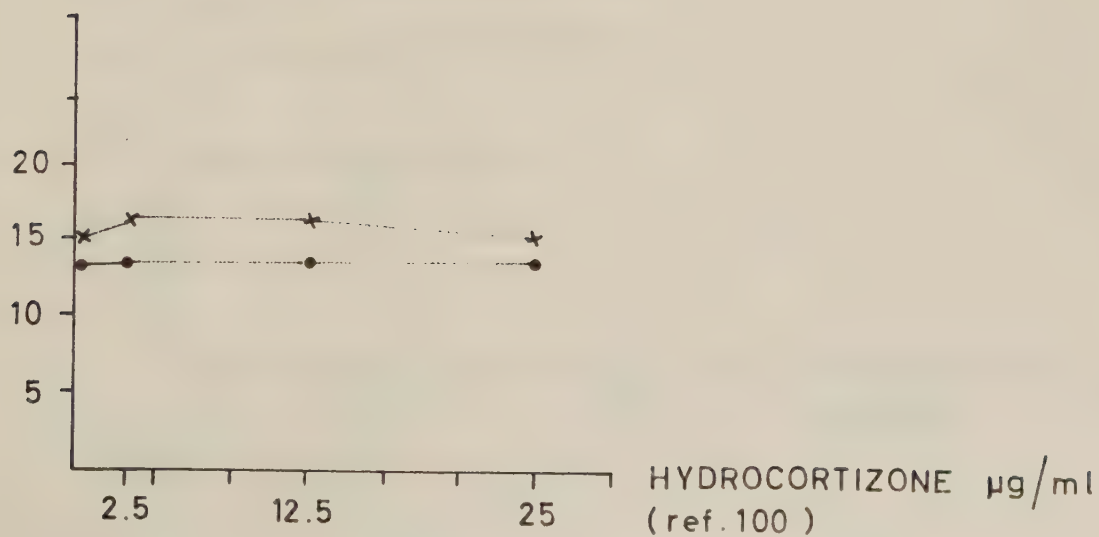


Fig. 6



TAUX DE  
FIXATION  
EN %

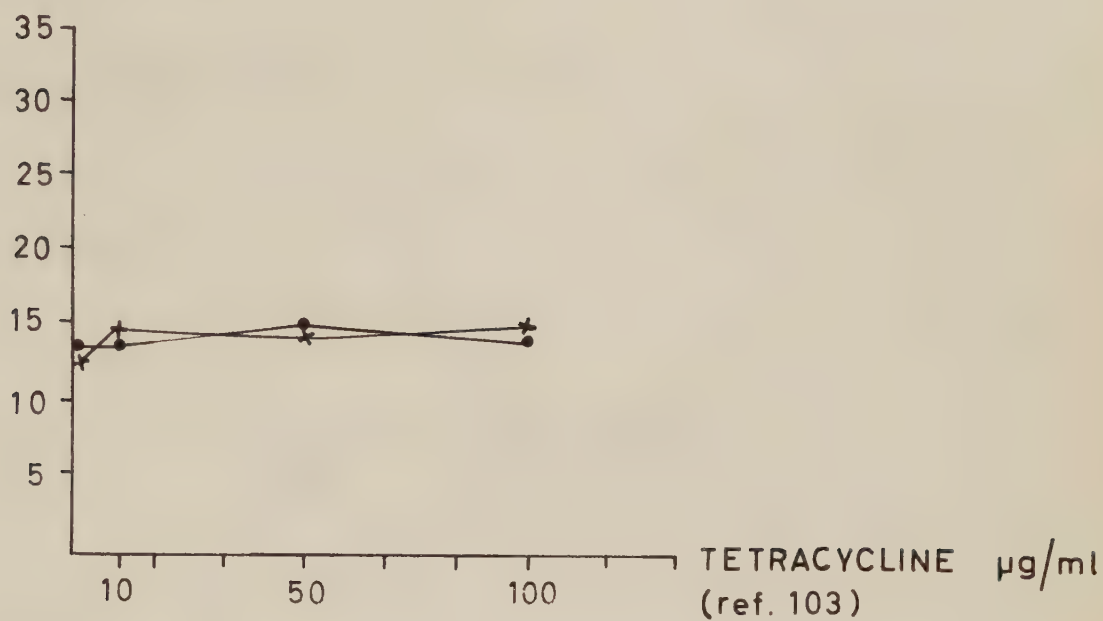


Fig. 7

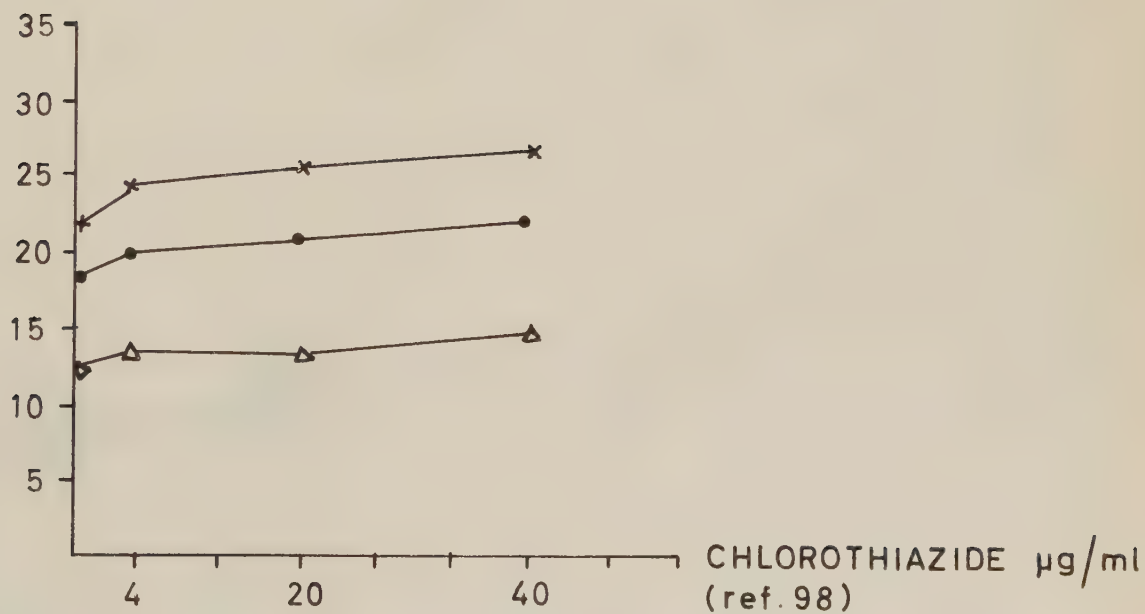


Fig. 8



Taux de  
fixation  
en %

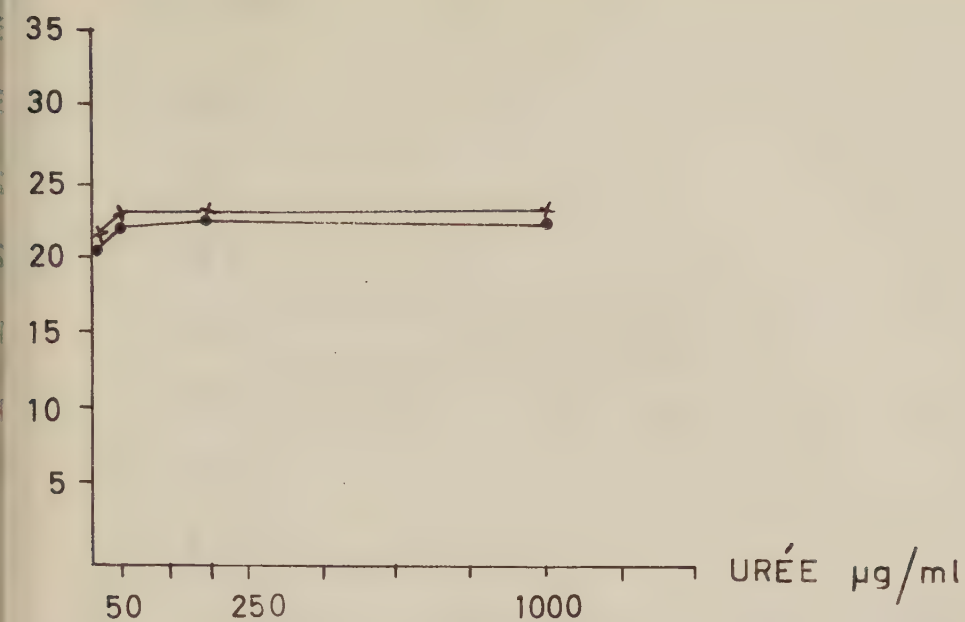
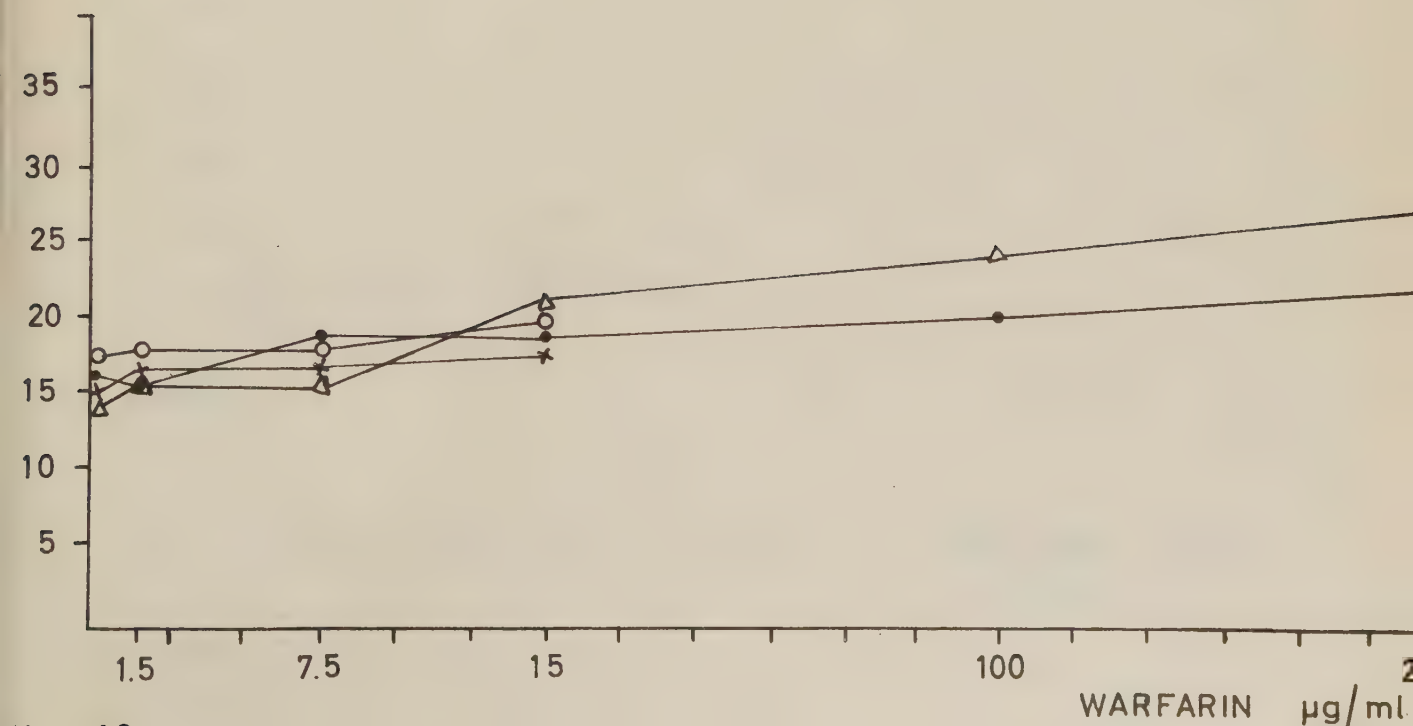


Fig. 9





TAUX DE  
FIXATION  
EN %

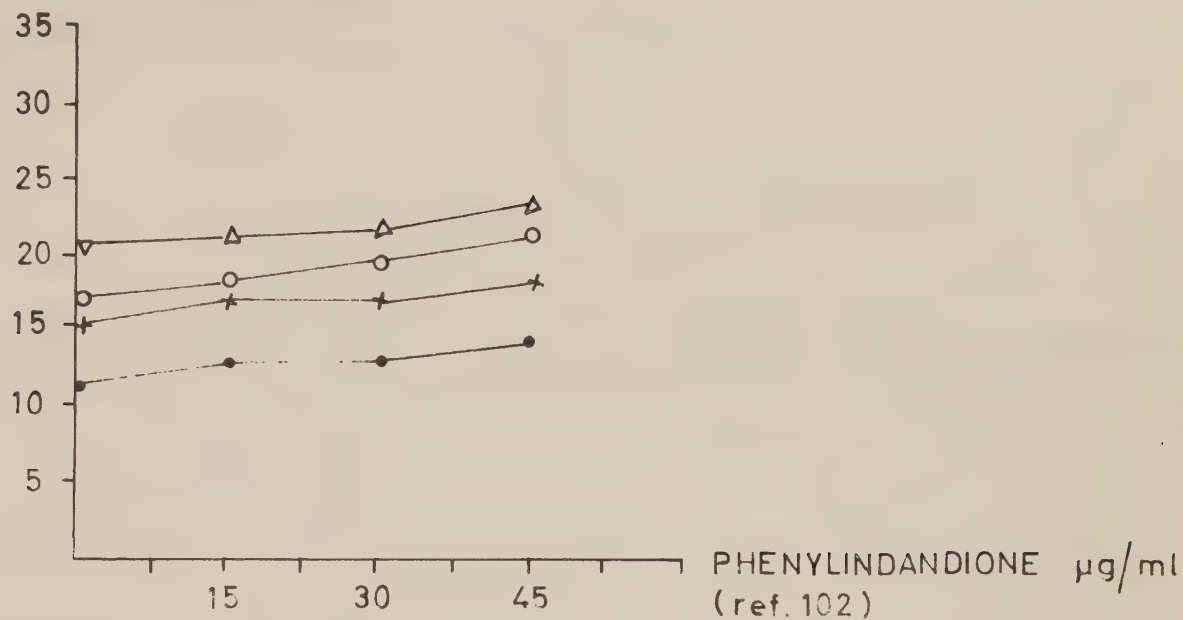


Fig. 11

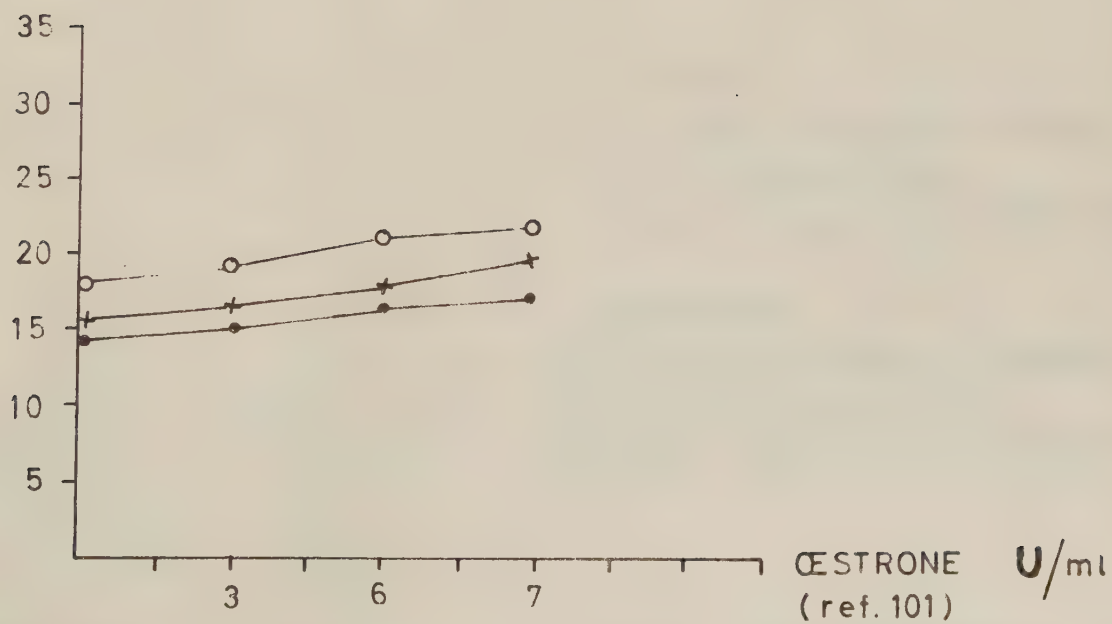
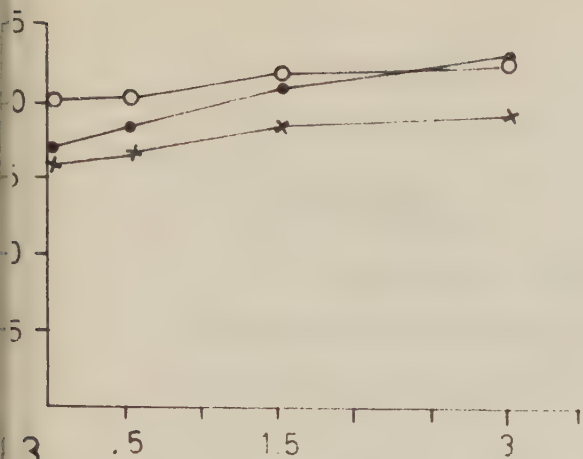


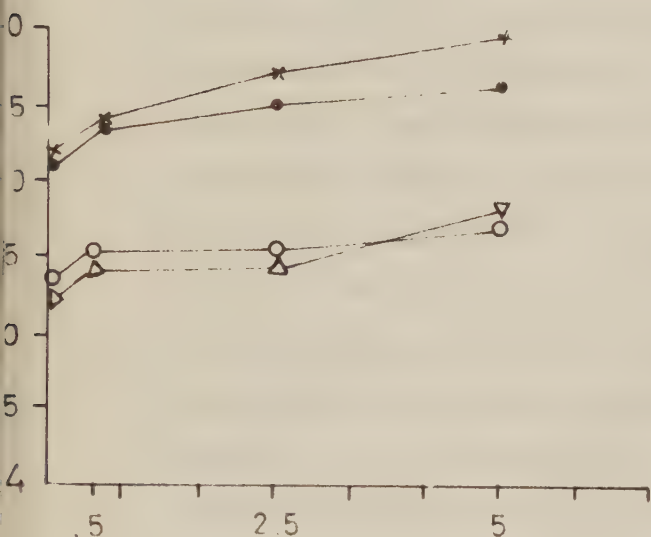
Fig. 12



IX DE  
ATION  
%



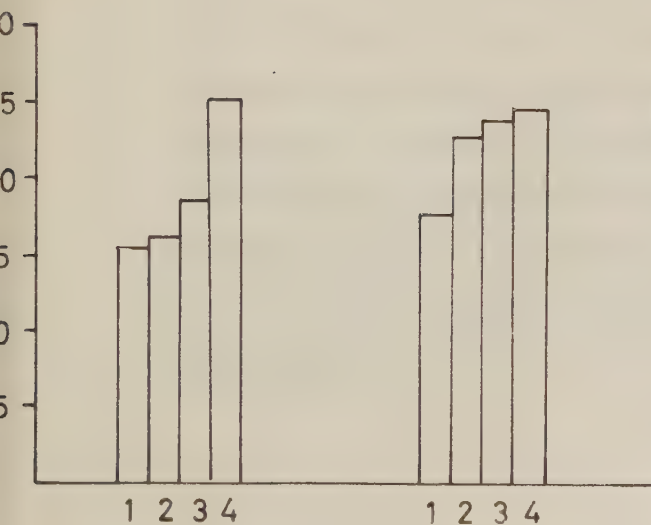
PHENYLACETATE DE TESTOSTERONE µg



DIPHENYHYDRAMINE µg/ml

I

- 1 CONTROLE
- 2 + 5 µg/ml DIPHENYHYDRAMINE
- 3 Id (2) + 64 µg ŒSTRONE
- 4 Id (3) + 45 µg PHENYLINDANDIONE



II

- 1 CONTROLE
- 2 + 5 µg/ml DIPHENYHYDRAMINE
- 3 Id (2) + 15 µg WARFARIN
- 4 Id (3) + 40 µg CHLOROTHIAZIDE

EFFETS DE MEDICAMENTS COMBINÉS

I

II



## VI- DISCUSSION -

-=====

1- Le Mécanisme :

L'épreuve fonctionnelle que nous venons d'étudier est basée sur l'observation de HAMOLSKY (69), que les érythrocytes de sujets hyperthyroïdiens fixaient plus de I (131) T<sub>3</sub> que ceux des sujets normaux. Pendant les dernières années, les travaux sur l'effet périphérique des hormones thyroïdiennes se sont considérablement développés grâce à l'utilisation des hormones marquées, et aux méthodes nouvelles de chromatographie et de l'électrophorèse. L'utilisation de radiohormones a permis en particulier d'étudier la captation de la thyroxine de la triiodothyronine par différents tissus : reins, diaphragme, etc ... C'est ainsi que les érythrocytes furent à leur tour utilisés, en milieu salin physiologique et en milieu plasmatique (70-72). Les études électrophorétiques sur la liaison des hormones thyroïdiennes aux protéines sériques ont montré que T<sub>4</sub> était liée à la TBP située dans la zone  $\alpha$ 1 et  $\alpha$ 2 des globulines et peut-être à la préalbumine. T<sub>3</sub> se comporterait de même avec une affinité plus faible que celle de T<sub>4</sub> : 3 fois moindre d'après TATA, 13 à 18 fois moindre d'après CHRISTENSEN (105). La TBP inhibe la fixation tissulaire de T<sub>4</sub> et T<sub>3</sub>, a été démontré sur différents tissus : érythrocytes (70 à 72) coupes de foie, de coeur et de rein (100). Il était donc naturel de penser que la fixation érythrocytaire était un équilibre physicochimique passif, réversible et dépendant de la liaison entre TBP et hormones thyroïdiennes endogènes aussi bien que I (131) T<sub>3</sub> surajouté. Autrement dit, le facteur primordial dans cette épreuve de fixation serait le sérum. Cela est appuyé par de nombreuses expériences que nous avons déjà citées :



1- Les entrecroisements d'érythrocytes normaux avec des sérums pathologiques suivait le sérum (1-2-73-95).

2- Les expériences de dilution de sang avec de l'eau salée, dans lesquelles le taux de fixation augmente d'une manière inversement proportionnelle à la concentration en TBP (73).

Mais certains doutes existent encore, même dans l'esprit de l'auteur du travail original (107).

Il objecte en particulier que le manque de parallélisme entre FBI et le taux de fixation est trop grand, alors que toutes deux dépendent de la TBP. CHRISTENSEN (108) explique ceci de la manière suivante : la fixation tissulaire étant indépendante de la T4 libre et non pas de la T4 liée, le parallélisme doit exister entre le taux de fixation et concentration de T4 libre ; et son calcul théorique vérifie cette hypothèse.

D'autre part, HAMOLSKY objecte que la fixation érythrocytaire ne se comporte pas exactement comme la fixation diaphragmatique ; par exemple, elle varie avec le genre d'anticoagulant utilisé pour prélever le plasma, alors que dans le cas de la fixation érythrocytaire il n'y a aucun effet.

Nous avons aussi vu (90-91) que dans certains désordres hématologiques des taux anormaux furent trouvés : chez les leucémiques, l'entrecroisement montre que l'élévation suit le plasma, alors que chez les polyglobuliques, elle suit à la fois le plasma et les érythrocytes, mais il n'est pas exclu que le plasma, mis en présence d'érythrocytes polyglobuliques, subisse une modification.



Qu'il s'agisse simplement d'un phénomène d'équilibre physique est encore appuyé par les observations de CRISPELL (70-72). Les inhibiteurs enzymatiques n'influencent pas la fixation et les membranes fixent autant que les érythrocytes eux-mêmes. Toutefois, nous ne pensons pas qu'il soit justifié d'affirmer comme il le fait, que la fixation se fait uniquement sur les membranes. Il a utilisé des quantités égales de membranes et d'érythrocytes (12 ml de chaque pour 2 ml de plasma), alors que le volume de membranes provenait de 2 ml d'érythrocytes, serait plus petit ; il n'est donc pas impossible que le I (131) T3 se fixe à la fois à l'intérieur et à l'extérieur des cellules, toujours d'après un équilibre.

Enfin, les variations dues au lavage et à la fuite de I (131) T3 avec chaque lavage sont aussi en faveur d'une telle hypothèse.

Le mécanisme étant ce qu'il est, il est aisé de comprendre les difficultés rencontrées par différents laboratoires pour mettre au point la technique. A notre avis, il est nécessaire de standardiser la méthode d'une manière très précise, la durée de chaque phase doit être toujours la même, le matériel utilisé toujours identique.

La radiotriodothyronine devrait être vérifiée chromatographiquement pour sa pureté, soit par le laboratoire de production, soit par le laboratoire d'analyse. Elle doit être conservée à 4° et à l'obscurité de préférence, avec de l'albumine de sérum humain à 1 % si l'on veut prolonger la survie. Autrement, il est préférable de la changer toutes les deux semaines et de la diluer avec du trismalate qui empêche la fixation sur le verre. Tous les anticoagulants peuvent être utilisés, le sang ne doit pas être nécessairement frais à condition qu'il ne soit pas hémolysé. Les échantillons doivent être incubés en flacons clos.



Le temps d'incubation doit être supérieur à 15 minutes et une fois choisi, il doit être tenu constant. Trois à cinq lavages peuvent être utilisés.

La méthode de HAMOLSKY est parfaitement satisfaisante si l'hématocrite s'éloigne trop des limites normales (35-50 %), on peut, soit le corriger, soit utiliser le coefficient de fixation d'ADAMS, qui se requiert d'un calcul supplémentaire.

Si les échantillons doivent être expédiés de centres éloignés, il serait préférable d'utiliser des érythrocytes de donneurs universels avec des sérums de malade, qui peuvent être conservés plus aisément.

Il semble que le remplacement des érythrocytes par une résine échangeuse d'ions, amène des améliorations techniques, valables; mais il faut attendre que cette résine soit à la portée d'un nombre plus grand de laboratoires, avant de pouvoir juger définitivement.

## 2- Valeur de cette épreuve en clinique :

Il semble que l'expérience clinique avec cette épreuve fonctionnelle soit suffisamment importante, tant du point de vue du nombre de malades étudiés que du nombre de laboratoires l'utilisant ; il n'est donc pas prématuré de tirer certaines conclusions. Si l'optimisme exagéré qui a accueilli les premières publications de HAMOLSKY a été bien tempéré par la découverte de nombreux facteurs modifiant le taux de fixation ; il n'en reste pas moins vrai que cette épreuve commence à prendre sa place parmi les examens de laboratoires routiniers. Ceci a été permis en partie par la possibilité de se procurer la radiotriodothyronine plus aisément.



Si l'on compare les résultats obtenus par HAMOLSKY dans les désordres thyroïdiens à ceux d'autres auteurs, on constate que ces pourcentages d'erreurs sont bien inférieurs aux autres : 3,6 % des normaux avait des taux hyperthyroïdiens, 0,2 % des taux hyperthyroïdiens, 0,9 % des hyperthyroïdiens étaient normaux.

Alors que dans la série de FRIIS, 5,6 % des normaux avaient des fixations supérieures à la normale, 12,5 % des hyperthyroïdiens et 50 % des hypothyroïdiens avaient des taux normaux. Les autres publications ont des valeurs se situant entre ces deux extrêmes. Notre propre expérience confirme celle de FRIIS, quant aux hypothyroïdiens et celle de HAMOLSKY pour les hyperthyroïdiens, il est évident que la série beaucoup plus grande de ce dernier lui donne beaucoup plus d'autorité. Toutefois, on peut affirmer que l'expérience accumulée par les différents auteurs, prouve que ce test a beaucoup plus de valeur chez les hyperthyroïdiens que chez les hypothyroïdiens. Ceci s'explique facilement si l'on tient compte que la plupart des facteurs, modifiant l'épreuve, ont tendance à l'élèver.

De même les résultats satisfaisants que HAMOLSKY a obtenu dans les hyperthyroïdies traitées n'ont pas été confirmés par les autres chercheurs.

Les effets de la grossesse sur le taux de la fixation ne sont guère surprenants. De nombreux auteurs (43-110-111-112) avaient noté l'élévation de la PBI dans cette condition. Il fut aussi démontré (44-47) que ceci était dû à une augmentation de la TBP. Il est donc naturel que le taux de fixation érythrocytaire soit diminué, puisqu'il y a plus de TBP non saturée capable de lier la I (131) T3. Ceci est appuyé par l'observation d'URELES et MURRAY (85) qui trouvèrent une diminution même dans les cas de femmes enceintes recevant de la thyroïde.



L'absence de diminution en cas d'avortement spontané serait fort intéressante à expérimenter sur une large échelle, car il y aurait là une épreuve de détection relativement simple que l'on pourrait utiliser à chaque examen prénatal. Il serait séduisant de rapprocher cette observation de la fréquence d'hypométabolisme chez les femmes qui ont un trouble du cycle. Malheureusement, il semble que le taux de fixation soit normal dans les cas d'hypométabolisme (73). Il est intéressant de constater que si in vivo les oestrogènes comme la grossesse diminuent le taux de fixation, l'addition in vitro produit en fait une légère augmentation (cf. chapitre précédent - fig. 12). On notera de plus que les androgènes ont un effet inverse ; ils diminuent la TBP (8) et augmente le taux de fixation. Leur action in vitro se fait dans le même sens, mais n'est pas assez forte pour expliquer entièrement l'élévation in vivo (fig. 13). Dans le cas des néphrites, la perte dans les urines de la TBP (47) explique amplement le taux de fixation dans le cas où les protéines sériques sont anormales. Mais dans les cas d'urémie aigüe sans syndrome protéinurie, cette explication n'est pas valable. Le parallélisme avec la créatininémie pourrait être une cause ou seulement un épiphénomène. Des expériences d'addition de créatininé in vitro pourrait éclaircir ce phénomène. Nos expériences avec l'urée prouvent que celle-ci n'agit pas par compétition avec la I (131) T3 - (Fig. 9). Le rôle de l'acidose a été démenti par FRIIS, qui utilisant des pH de 6 à 7 ne trouva aucune variation. Il est fort probable que la modification du taux de fixation est en fait le résultat de plusieurs effets combinés ; par exemple, acidose additionnée de rétention (à cause de l'oligurie) de médicaments et de métabolites endogènes.

C'est pourquoi, même dans les cas de néphrites avec protéinurie, il ne trouve pas de corrélation stricte, ni avec le potassium



sanguin, ni avec les anomalies des protéines sériques telles qu'elles étaient démontrées par électrophorèse.

Dans ce même travail, FRIIS n'avait trouvé aucune déviation dans les comas diabétiques, alors que WOLDRING (74) avait noté une élévation qui disparaissait après correction de l'acidose. Ceci est peut-être dû au fait que celui-ci utilisait du sang hémarinisé (qui conserve l'acidité), alors que FRIIS employait du sang oxalaté et de plus lavait les érythrocytes avec de la solution ACD (acide citrique-citrate-dextrose). Notre propre expérience confirmerait plutôt les résultats de WOLDRING.

FRIIS ne croit pas non plus que l'acidose ait un rôle quelconque dans les bronchites chroniques. Dans ce cas, il semble incertainement prouvé que l'élévation soit proportionnellement à la pression partielle en  $\text{CO}_2$  et inversement proportionnelle à la saturation ; ceci a été aussi prouvé par des expériences in vivo (2). HAMOLSKY trouva pourtant des élévations moindres in vitro qu'in vivo. Dans un article plus récent (120), HAMOLSKY et son groupe appuyent l'importance de la pression partielle en  $\text{CO}_2$  ( $p \text{ CO}_2$ ) sur les constatations suivantes :

- 1- La corrélation frappante entre  $p \text{ CO}_2$  et le taux de fixation.
- 2- L'augmentation du "turnover" de  $\text{T}_4$  chez les sujets hypercapniques.
- 3- La corrélation de la fixation de  $\text{I}^{131}$   $\text{T}_3$  par les tissus in vitro avec des  $p \text{ CO}_2$  modifiés.
- 4- La corrélation de la vitesse de dialyse de  $\text{T}_4$  et  $\text{T}_3$  du plasma avec la  $p \text{ CO}_2$ .



Il pense que le rôle de pH sanguin serait minime car :

1- chez les sujets hypercapniques, le pH est normal ou légèrement acide.

2- le taux de fixation décroît avec une diminution thérapeutique de la  $p\text{ CO}_2$  sans changement significatif du pH.

3- La corrélation du pH, par administration du bicarbonate, ne ramène pas à la normale la vitesse de dialyse, accrue par une augmentation de  $p\text{ CO}_2$ . FRIIS trouva aussi que si les sujets à potassémie élevés avaient des taux de fixation élevés, la réciproque n'était pas toujours vraie. Il semble bien que là aussi, il s'agit de deux effets d'une même cause. Il ne trouva enfin aucune corrélation avec le  $\text{CO}_2$  total, la chlorémie et le sodium sérique.

HAMOLSKY (2) avait trouvé fréquemment des taux de fixation élevés dans les hépatites aiguës et les cirrhoses. ROBBINS (86), au contraire, trouva des diminutions dans deux cas : l'un d'hépatite chronique, l'autre de métastase hépatique d'un cancer du sein à la phase terminale. Pendant deux hépatites aiguës, les taux étaient normaux. URELES (85) trouva des taux élevés dans des décompensations cardiaques. FRIIS (73) trouva des diminutions dans trois cas d'hépatites chroniques. Les résultats de HAMOLSKY sont donc en contradiction avec les autres auteurs. Peut-être qu'ici aussi intervient un facteur de sélection des malades. HAMOLSKY a utilisé des cas aiguës, alors que les autres se sont adressés surtout à des hépatites chroniques. Il ne serait guère étonnant que les profils électrophorétiques différents dans les deux phases soient responsables des divergences. En tout cas, les diminutions du taux de fixation sont bien confirmées par l'élévation de la  $\text{PBI}$  (FRIIS et CHRISTENSEN (113) ). Une étude plus systématique à l'aide d'électrophorèses pourrait clarifier cette question.



Dans les désordres hématologiques (90-91) les élévations du taux de fixation accompagnaient deux cas de leucémie et un cas de HODGKIN. Les expériences d'entrecroisement prouvent que cela est dû à une modification du sérum. S'agirait-il là d'une modification de la TBPA, telle qu'on en a rapporté chez les malades graves et surtout chez les cancéreux (49-114) ? Ceci produirait à la fois des PBI décrues (115-116) et des taux de fixation élevées (2). Ceci accompagnait en général une chute totale des globulines. Il serait très prématuré de conclure, si l'on tient compte de la confusion qui règne encore au sujet de la TBPA. Si celle-ci n'était qu'une contamination de l'albumine par la TBP (35), il ne serait guère surprenant qu'elle soit décrue en cas de diminution de l'albumine. De plus, nous avons observé dans notre étude in vitro qu'une combinaison de médicaments, qui, chacun pris isolément n'affecte pas l'épreuve de fixation, produit une élévation significative. Nous savons avec quelles précautions l'on doit passer d'un résultat obtenu in vitro à des conclusions valables chez l'homme ; mais il est certain que ces "malades graves" reçoivent le plus souvent un grand nombre de médicaments.

Dans le cas de la polyglobulie essentielle, les expériences d'entrecroisement avec du sang normal montraient que l'élévation suit à la fois le sang et les érythrocytes, le phénomène est donc plus complexe. La seule hypothèse est que la présence de ces érythrocytes anormaux produirait une modification du sérum, par un mécanisme inconnu.

KURLAND et ses collaborateurs (81) ont décrit les élévations du taux de fixation dans certaines tachycardies paroxystique. Il est bien connu que de nombreux cas d'hyperthyroïdisme sont découverts chez des sujets présentant des symptômes cardiaques, dans les arythmies viennent au premier plan. On peut donc penser que l'élévation du taux de



fixation serait simplement due à l'hyperthyroïdie ; pourtant les cas cités n'avaient aucun autre élément pour confirmer ce diagnostic. De plus l'élévation n'était pas permanente. S'agirait-il d'une sécrétion hormonale accrue de type paroxystique ? Alors les autres épreuves biologiques devraient être modifiées aussi. Il est plus vraisemblable que ces sujets soient normaux quant à leur fonction thyroïdienne. Une explication possible serait l'anoxie passagère produite par la tachycardie. Il a été démontré chez le chien que la tachycardie supraventriculaire s'accompagnait d'une diminution de la saturation en oxygène. Nous avons vu plus haut l'effet que celle-ci peut avoir sur le taux de fixation.

SPAFFORD et ses collaborateurs (92) ont montré que, si à la naissance le taux de fixation était bas (9,9 %) intermédiaire entre celui de l'adulte et de la mère à la fin de sa grossesse, il augmentait rapidement pour atteindre un maximum (19 %) lors du deuxième jour, retombait à la limite inférieure de la normale (11,6 %), puis atteignait une valeur normale (14,3 %) le septième jour.

La chute initiale serait due au passage transplacental des oestrogènes maternels (45-117). L'élévation qui suit serait le résultat combiné de la dégradation des oestrogènes et de l'augmentation totale des hormones circulantes. VAN MIDDLESWORTH (119) a trouvé des captations thyroïdiennes de  $I^{131}$  de 60 à 70 % à la naissance. Très peu de cet  $I^{131}$  capté à 24 heures était éliminé après 96 heures. SPAFFORD suggère que cette épreuve serait très utile pour la détection du crétinisme, car elle peut se faire avec peu de sang, n'est pas affectée par l'administration d'iode, et n'expose pas l'enfant à une ingestion de corps radioactifs. Notre expérience limitée à un cas de crétinisme ne confirme guère ceci, car le taux de fixation était normal chez notre malade.



CRIGLER (87) en contradiction avec les résultats trouvés chez l'adulte trouva que le taux de fixation était diminué chez les enfants traités avec la T3. Dans ces cas, il ne présenterait donc aucun avantage sur la PBI.

Nous n'avons pas pu expliquer les taux de fixation élevés des sujets traités avec des anticoagulants (2). Il a été prouvé qu'il n'y avait aucune relation avec le taux de prothrombine. Il ne s'agit pas non plus d'une compétition au niveau de la TBP, car les élévations obtenues par l'addition in vitro de WARFARIN ou de phenylindandione (fig. 10 et 11) sont trop petites pour l'expliquer. Seules des doses supraphysiologiques de WARFARIN ont produit une élévation marquée. Il est intéressant de noter au passage que WILLIAMS (119) a découvert à la phenylindandione des propriétés antithyroïdiennes, ce qui devrait en fait produire une diminution du taux de fixation. A présent, la seule hypothèse concevable est que les anticoagulants puissent agir par un mécanisme similaire aux androgènes et diminuent la TBP.

D'autres médicaments ont été expérimentés in vitro par nous; les résultats les plus remarquables ont été trouvés avec le salicylate de soude et la phenylbutazone (fig. 4-5). Ces élévations présentent d'autant plus d'intérêt que ces médicaments sont utilisés couramment et d'une manière prolongée en clinique. La salicylate de soude présente aussi des actions opposées à différents niveaux. AUSTEN et WOLFF (121-122) ont exploré l'effet de celui-ci sur la fonction thyroïdienne et montré qu'il y avait une diminution de la PBI et de la captation thyroïdienne, ce qui théoriquement devrait entraîner une chute du taux de fixation. CHRISTENSEN (108-109) a montré que le salicylate augmentait la thyroxine libre dans le sérum de 219 % (50 mg / 100 ml) et l'acide paraamino salicylique l'augmentait à 35 %.



L'explication logique de tous ces phénomènes est que le salicylate de soude entre en compétition avec T4 pour se lier à la TBP ; il entraîne une augmentation du taux de T4 libre qui, à son tour, inhiberait la sécrétion de la TSH par l'hypophyse antérieure. La chute du taux sérique de TSH entraînerait une diminution de la sécrétion hormonale de la thyroïde. En conclusion, le taux de fixation de I (131) T3 serait quand même augmenté in vivo à cause de la compétition au niveau de la TBP. L'acide para amino salicylique agirait de même et ceci est confirmé par l'observation d'AGNEW (88) que des sujets traités au PAS avaient des taux de fixation élevés.

Une autre preuve que l'action des médicaments se fait par l'intermédiaire du sérum et vraisemblablement par compétition est apportée par une de nos expériences in vitro : si du salicylate de soude, ou du phenylbutazone est ajouté à des érythrocytes incubés avec de l'eau salée physiologique, il n'y a pas d'élévation notable.

CHRISTENSEN, dans la publication déjà citée, a trouvé un effet semblable du dinitrophenol bien qu'à un degré moindre. Il attribue ses effets calorigéniques à la sécrétion de la thyroxine. Mais nous savons bien que cette substance a, en plus des propriétés chimiques semblables à T4 dans le contrôle de la phosphorylation oxydative.

Les autres médicaments que nous avons utilisés n'ont pas montré l'élévation frappante, lorsqu'ils étaient utilisés seuls. L'hydrocortisone ne modifie pas le taux de fixation et ceci concorde avec les observations de HAMOLSKY (2) chez des sujets traités à la cortisone (fig. 6). Cela est d'autant plus remarquable que les théories présentes des transports des corticostéroïdes situeraient leur migration dans la bande des  $\alpha$  globulines (123).



Un fait notable que l'on retire de ces études in vitro est qu'il y a beaucoup plus de facteurs produisant de fausses élévations du taux de fixation que des diminutions. Ceci expliquerait pourquoi les résultats sont bien meilleurs dans les cas d'hyperthyroïdisme.

### 3- Comparaison avec les autres épreuves d'exploration thyroïdienne :

La comparaison de cette épreuve avec les autres examens de laboratoire utilisés en exploration thyroïdienne est rendue difficile par la variabilité des résultats trouvés par différents auteurs. Si l'on ne tenait compte que de ceux publiés par HAMOLSKY, cette épreuve apparaît remarquablement supérieure à toute autre, quasi pathognomonique. Au contraire, à la lumière des travaux qui l'ont suivi, elle semble apporter une aide bien plus appréciable dans l'hyperthyreose où elle laisse à désirer.

Comparée au métabolisme basal, même mesure dans les meilleures conditions suivant les recommandations de RAVAUX (124) et WARTER (125), elle présente l'avantage de la simplicité. Elle ne requiert du malade qu'une prise de sang. Elle est plus discriminative dans l'hyperthyroïdie et reste normale dans l'hypométabolisme sans affection thyroïdienne. De plus, chez l'enfant, le métabolisme basal est relativement difficile à mesurer (126).

A l'encontre de la captation thyroïdienne de I (131), le taux de fixation n'est pas affecté par l'ingestion d'iode. Il retourne à la normale plus rapidement chez les hyperthyroïdiens traités chirurgicalement ou à l'iode radioactif, alors que la captation reste longtemps élevée, comme l'ont observé De GENNES et FAUVERT (127) d'une part, TUBIANA et VALLES (128) d'autre part. De plus,



pour être très précise, la mesure de la captation thyroïdienne doit être faite suivant la méthode de Gilbert DREYFUS (129-130) avec étude de l'angle de fuite, ce qui nécessite la présence répétée du malade, et par ce fait, est peu pratique chez les sujets non hospitalisés. La stimulation de la captation par la TSH ou la suppression par le thyocyanate (131) apportent une aide supplémentaire dans certains cas. L'index de conversion de I (131) est très utile dans l'hyperthyreose mais sans valeur dans l'hypothyreose (132).

De même que la captation, la PBI et la BEI sont affectées par l'ingestion d'iode. La fixation érythrocytaire a, de plus, l'intérêt d'être facile à performer et ne nécessite pas une pièce isolée. En faveur des mesures chimiques de l'iode protéique, on peut ajouter qu'elles apparaissent moins souvent fausses négatives chez les hypothyroïdiens. Ceci est vraisemblablement dû au fait qu'en cas de compétition au niveau de la TBP, la fixation de I (131) T3 est affectée plus précocement.

Comme on peut le constater, chaque épreuve a ses avantages et nulle ne remplace les autres complètement.

Nous n'avons discuté ici que des épreuves fonctionnelles relativement simples et à la portée de tout laboratoire moyen. Il est évident que ces examens sont nettement inférieurs aux investigations plus poussées de laboratoires très spécialisés.

Nous citerons l'étude de la dégradation in vivo de la radiothyroxine mise au point par De GENNES et son groupe (133-134), comme ses auteurs le disent son emploi doit être limité aux cas difficiles, à cause du prix de revient et de la perte de temps. D'après VAGUE et ses élèves (135) la séparation des composés iodés plasmatiques par la



méthode de BLANQUET MEYNIEL sur résines échangeuses d'ions serait fort intéressante, mais comme la première, devrait être réservée aux cas compliqués.



## VII- CONCLUSION ET RESUME -

-----

Dans les pages qui précèdent, nous avons essayé de présenter un examen biologique qui commence à prendre sa place dans les laboratoires des hôpitaux universitaires et certains laboratoires commerciaux aux Etats-Unis ainsi que dans les Pays Scandinaves. Nous avons tenté d'exposer dans la mesure du possible les phénomènes biochimiques et physiologiques sur laquelle cette épreuve est basée.

En bref, la fixation érythrocytaire de I (131) T3 dépend d'un équilibre physique entre les érythrocytes et les protéines sériques qui lient les hormones thyroïdiennes circulantes (TBP et peut-être TBPA). Le rôle des érythrocytes est donc passif, à moins de désordre hémato-logique indépendant du désordre thyroïdien ; le sérum est l'élément primordial. Le sérum de malade pourrait être utilisé, soit avec des érythrocytes de donneurs universels, soit même avec des résines échangeuses d'ion. Toutefois, celles-ci ne sont pas encore à la disposition de tous les laboratoires.

La technique de cette épreuve est relativement simple, si l'on prend un certain nombre de précautions. Elle peut être étalonnée d'une manière arbitraire par chaque laboratoire. Mais les limites des valeurs normales doivent être établies sans tenir compte des valeurs publiées dans la littérature. L'utilisation du taux de fixation d'ADAMS ou de la modification de la méthode par HLAD ne semble pas apporter d'amélioration majeure.

L'épreuve ainsi réalisée est reproductible aisément et assez discriminative. Le seul autre facteur qui pourrait empêcher une utilisation plus répandue est la possibilité de se prouver de la



radiotriiodothyronine.

Si elle n'a pas remplacé les autres épreuves complètement, elle peut leur être comparée favorablement. Son avantage principal est qu'elle n'est pas affectée par l'administration d'iode, qui, avec l'utilisation courante des radiopaques et antitussifs, a rendu souvent difficile l'utilisation des épreuves de captation thyroïdienne et de la PBI. Nous avons énuméré une longue liste de facteurs influençant le taux de fixation. Beaucoup de ces facteurs sont des conditions physiologiques ou pathologiques aisément reconnues : grossesses, néphrites, hépatites, bronchites chroniques. D'autres sont des médicaments tels que les anticoagulants. Cette liste n'a pas la prétention d'être complète. Mais nous avons essayé d'ajouter toutes les informations publiées jusqu'ici au travail clinique et expérimental que nous avons nous-mêmes performé.

Comme tous les autres examens de laboratoire, celui-ci aussi requiert tout l'esprit critique et le discernement du médecin qu'ils n'ont pas encore remplacé.



- REFERENCES -

-----

- 1- Hamolsky M. W., Stein M. and Freedberg A.S. : J. Clin. Endocrino - 17 : 33 (1957).
- 2- Hamolsky M. W., A., and Freedberg A.S. : J. Clin. Endocrino - 19 : 103 (1959).
- 3- Pitt-Rivers R. and Tata J.R. : The Thyroid Hormones ; London : Pergamon (1959).
- 4- Pitt-Rivers R. and Tata J.R. : The Chemistry of Thyroid Diseases. Springfield 111 : C. Thomas 1961.
- 5- Tata J. R. : Brit. med. Bull. 16 : 142 (1960).
- 6- Béraud T. : Acta Endocrino. sup. 55 vol. 35 (1960).
- 7- Robbins J. and Rall J. E. : Physiol. Rev. - 40 : 415 (1960).
- 8- Ingbar S.H. and Freinkel N. : Récent progress in Hormones Research. - 16 : 353 (1960).
- 9- Trevorrow V.J. Biol. Chem. - 127 : 737 (1939).
- 10- Lerman J. : J. Clin. Invest. - 19 : 555 (1940).
- 11- Taurog A. and Chaikoff I. L. : 171 : 439 (1948) J. Biol. Chem.
- 12- Harington C.R. : Proc. Roy. Soc. B. 132 : 223 (1944).
- 13- Leblond C.P. and Gross J. : J. Clin. Endocrino - 9 : 149 (1949).
- 14- Laidlaw J.C. : Nature. Lond. - 164 : 927 (1949).
- 15- Gross. J. and Pitt-Rivers R. : Lancet - 11 : 766 (1951)
- 16- Roche J. Lissitzky S. et Michel R. : C.R. Soc. Biol. PARIS 146 234 : 997 et 1228 (1952).
- 17- Pitt-Rivers R. : Endocrinology. - 68 : 309 (1961).
- 18- Robbins J. and Rall J. E. and Rawson R. W. : J. Clin. Endocrino - 15 : 1315 (1955).
- 19- Tata J. R., Rall J. E. and Rawson R. W. : J. Clin. Endocrino 16 : 1554 (1956).
- 20- Robbins J., Wolff J. and Rall J. E. : Endocrinology - 64 : 12 (1959).



- 21- Danowsky T.S. Johnston S.Y. and Greenmann J.H. : J. Clin Endocrino - 10 : 519 (1950).
- 22- Mack R.E. Hart K.T. Druet D. and Bauer M.A. : Amer J. Med - 30 : 323 (1961).
- 23- Gordon A.H. Gross J. O'Connor D. and Pitt-Rivers R. : Nature Lond. - 169 : 19 (1952).
- 24- Robbins J. Arch. Biochem. Biophys. - 63 : 461 (1956).
- 25- Rich C. and Bearn A.G. Endocrinology - 62 : 687 (1958);
- 26- Tata J.R. : Mémoires Soc. Endocrino.
- 27- Cohn J.E. Strong L.E. Hughes W.L. Jr. Mulford D.J. Ashworth J.N. Melin and Taylor A.L. : J. Amer. Chem; Soc. - 68 : 459 (1956).
- 28- Freinkel N. Dowling J.T. and Ingbar S.H. : J. Clin. Invest. - 34 : 1698 (1955).
- 29- Robbins J. Petermann M.L. and Rall J.E. J. Biol. Chem. 208 : 369 - 377 - 387 (1954) - 212 : 403 (1955).
- 30- Schmid K. : J. Ameri Chem. Soc. - 75 : 60 et 2532 (1953).
- 31- Mehl J.W. Golden F. and Winzler R.J. : Proc. Soc. Exper. Biol. N.Y. - 72 : 110 (1949).
- 32- Fiaschi E. et Andreoli M. : Folia Endocrino - 12 : 200 (1959).
- 33- Ingbar S.H. : Endocrinology - 63 : 256 (1958).
- 34- Christensen L.K. and Litonjua D. : J. Clin. Endocrino : 21 : 104 (1961).
- 35- Tata J.R. : Nature Lond. - 189 : 573 (1961).
- 36- Larson F.C. and Albright E.C. : Endocrinology - 56 : 737 (1955).
- 37- Robbins J. and Rall J.E. : J. Clin. Invest. - 34 : 1331 (1955).
- 38- Lein A. Abstr. - 123<sup>rd</sup> Meeting Amer. Chem. Soc. Div. Biol. Chem. N° 42 16 C (1953).
- 39- Robbins J. and Rall J.E. : Recent Progr. Hormones Res. - 13 : 161 (1957).
- 40- Albright E.C. Larson F.C. and Deiss W.P. : J. Clin Invest. 34.



- 41- Freederg A.S. and Hamolsky M.W. : Trans. Ass. Amer Phyons. - 69 : 255 (1956).
- 42- Hamolsky M.W. Ellison H.E. and Freederg A.S. : J. Clin Invest. - 36 : 1486 (1957).
- 43- Heinemann M. Johnson C.E. and Man E.B. : J. Clin. Invest. - 27 : 91 (1948).
- 44- Dowling J.T. Freinkel N. and Ingbar S.H. : J. Clin. Endocrino - 16 : 280 (1956).
- 45- Dowling J.T. Freinkel N. and Ingbar S.H. : J. Clin. Invest - 35 : 1263 (1956).
- 46- Dowling J.T. Freinkel N. and Ingbar S.H. : J. Clin. Endocrino - 16 : 1491 (1956).
- 47- Freinkel N. Ingbar S.H. and Dowling J.T. : J. Clin. Invest. - 36 : 25 (1957).
- 48- Robbins J. Rall J.E. and Petermann M.L. : J. Clin. Invest. - 36 : 1333 (1957).
- 49- Ingbar S.H. : Ann. N.Y. Acad. SCI - 86 : 440 (1960).
- 50- Robbins J. and Nelson J.H. : J. Clin. Invest. - 37 : 153 (1958).
- 51- Tanaka S. and Starr P. : Metabolism. - 8 : 441 (1959);
- 52- Tanaka S. and Starr P. : J. Clin. Endocrino - 19 : 485 (1959).
- 53- Béraud T. et Vannotti A. : Scheiw. Med. Wehnschr. - 87 : 996 (1959).
- 54- Vannotti A. et Béraud T. : J. Clin. Endocrino - 19 : 466 (1959).
- 55- Vannotti A. et Béraud T. et Cruchaud J. : Gastroenterologia - 87 : 129 (1957).
- 56- Friis T. : Ugesk Laeger - 121 : 1311 (1959).
- 57- Kydd D.M. and Man E.B. : J. Clin. Invest. - 30 : 874 (1951).
- 58- Mueller R.C. Brausch C. Hirsch E.Z. Benua R.S. and Dobyns B.M. : J. Clin. Endocrino - 14 : 1287 (1954).
- 59- Tanaka S. and Starr P. : J. Clin. Endocrino - 19 : 84 (1959).



- 60- Blumberg B.S. and Robbins J. Endocrinology - 67 : 368 (1960).
- 61- Tata J.R. and Shellabarger C.J. : Biochem. J. - 72 : 608 (1959).
- 62- Goldstein A. : Phatmacol. Rev. - I : 102 (1949).
- 63- Davis B.D. in : Evaluation of Chemotherapeutic Agents. C. Mac Leod N.Y. Columbia (1949).
- 64- Greenberg D.M. : Adv. in Protein Chem. - I : 121 (1944).
- 65- Christensen L.K. : Acta Med. Scand - 166 : 141 (1960).
- 66- Mack C.H. : The Plasma Protein in Pregnancy. C. Thomas Springfield 111 (1955).
- 67- Lissitzky S. Roques M. et Benevant M. T. : Strahlen-therapie Sup. - 45 : 301 (1960).
- 68- Lissitzky S. Roques M. et Benevant M. T. : Bull. Soc. Chim. Biol. T 42 : 1186 (1960).
- 69- Hamolsky M.W. : J. Clin. Invest. - 34 : 914 (1955)
- 70- Crispell K.R. Kahana S. Hyer H. : J. Clin. Invest. - 35 : 121 (1956).
- 71- Crispell K.R. Coleman J. : J. Clin. Invest. - 35 : 474 (1956).
- 72- Crispell K.R. Coleman J. and Hyer H. : J. Clin. Endocrino - 17 : 1305 (1957).
- 73- Friis T. : Acta Endocrino - 33 : 117 (1960).
- 74- Woldring M.G. Bakker A. and Doorenbos H. : Acta Endocrino - 34 : 305 (1960).
- 75- Hlad C.J. Jr. Erwing M. and Elrick H. : J. Nuclear Med. I : 37 (1959) et Communication privée.
- 76- Meade R.C. : J. Clin. Endocrino - 20 : 480 (1960).
- 77- Adams R. Specht N. and Woodward I : J. Clin. Endocrino 20 : 1366 (1960).
- 78- Mitchell M.L. Harden A.B. and O'Rourke M.E. : J. Clin Endocrino - 20 : 1474 (1960).
- 79- Sterling K. and Tabachnick M. : J. Clin. Endocrino - 21 : 456 (1961).



- 80- Friis T. and Hall T. : Acta Endocrino - 24 : 411 (1957)
- 81- Kurland G.S. Godolo Z.A. Hamolsky M.W. and Freedberg A.S. : J. Clin. Endocrino - 19 : 92 (1959)
- 82- Sterling K. : Clin. Res. - 7 : 242 (1959)
- 83- Koons C.R. : J. Nuclear Med. - 1 : 37 (1959)
- 84- Hlad C.J. : Communication privée
- 85- Ureles A.L. and Murray M. : J. Lab. Clin. Med. - 54 : 178 (1959)
- 86- Robbins L.R. : J. Clin. Endocrino - 19 : 1292 (1959)
- 87- Crigler et al. A.M.A.J. Dis. Child. - 98 : 665 (1959)
- 88- Agnew C.H. : Med. Times - 88 : 1635 (1960)
- 89- Carr, L.E. Beierwaltes W.H. Spafford N.R. Duncan L.L. and Starbrought L.A. : Un. Mich. Bull. - 26 : 117 (1960)
- 90- O'Neill Barret Jr. Berman A. and Maier J.G. : Clin. Res. Apr. 1960 (abst.)
- 91- Id. J. Clin. Endocrino - 20 : 1467 (1960)
- 92- Spafford N.R. Carr. E.A. Lowrey G.H. and Beierwaltes W.H. A.M.A.J. Dis. Child. - 100 : 844 (1960)
- 93- Youg R.W. Nicholas W.C. Mac Gregor P.A. and Rusted I. Canad. Med. Assoc. J. - 83 : 11602 (1960)
- 94- Walfish P.G. Britton A. Volpe R. and Ezrin C. : Canad. Med. Assoc. J. - 84 : 637 (1961)
- 95- Friis T. and Kristensen H.P.O. : Acts Endocrino - 36 : 335 (1961)
- 96- Oppenheimer J.H. Fischer L.V. Nelson K.M. and Jailer J.W. J. Clin. Endocrino - 21 : 252 (1961)
- 97- Lee N.D. Pilegg V.J. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med - 106 : 684 (1961)
- 98- Beyer : Ann. N.Y. Acad. Scien. - 71 : 370 (1958)
- 99- Burns et al. : J. Phar. Exp. Therap - 109 : 346 (1953)
- 100- Samuels : in Hormones in The Blood Ciba Coll. XI Little Brown Boston (1958)
- 101- Pearlman : id. 100
- 102- Schulert and Wien : J. Phar. Exp. Therap - 100 : 451 (1954)
- 103- Goodman L.S. and Gilman A. : M<sup>C</sup> Millan N. Y. 1955 P. 1382



- 104- Goodman L.S. and Gilman A. : M<sup>c</sup> Millan N. Y. 1955 p.293
- 105- Christensen L.K. : Acta Endocrino - 33 : 293 (1960)
- 106- Freinkel N. Ingbar S.H. and Dowling J. T. : J. Clin. Invest. 36 : 25 (1957)
- 107- Hamolsky M.W. : in Rec. Prog. Horm. Res. - 16 : (1960) p. 400
- 108- Christensen L.K. : Nature Lond - 183 : 1189 (1959)
- 109- Christensen L.K. : Acta Med. Scand - 116 : 133 (1960)
- 110- Man E.B. Heinemann M. Johnson C.E. Leary D.C. and Peters J.P. : J. Clin. Invest. - 30 : 137 (1951)
- 111- Engstrom W.W. Kydd D.M. Peters J.P. and Man E.B. J. Clin. Invest. - 30 : 151 (1951)
- 112- Friis T. and Secher E. : Acta Endocrino - 18 : 428 (1955)
- 113- Friis T. and Christensen L.K. : Dan Med. Bull : 5 : 1 (1955)
- 114- Richards J.B. Dowling J.T. and Ingbar S.H. : J. Clin Invest. - 38 : 1035 (1959)
- 115- Engstrom W.W. and Markadt B. : J. Clin. Endocrino - 14 : 215 (1954)
- 116- Engstrom W.W. and Markadt B. : J. Clin. Endocrino - 15 : 953 (1955)
- 117- Robbins J. and Nelson J.H. : J. Clin. Invest. - 37 : 153 (1958)
- 118- Van Middlesworth L. : A.M.A.J. Dis. Child. - 88 : 439 (1954)
- 119- Williams E.D. and Doniach - 1 : J. of Endocrino - 21 : 421 (1961)
- 120- Hamolsky M.W. Stein M. Fisher D.B. and Freedberg A.S. Endocrinology - 68 : 662 (1961)
- 121- Austen F.K. Rubini M.E. Meroney W.H. and Wolff J. : J.C.I. - 37 : 1130 (1958)
- 122- Wolff J. Austen F.K. : id. 121 - 1135
- 123- Deughaday W.H. and Maris I.K. : in Biological Activities of Steroids in relation to cancer ed. par G. Pincus and E.P. Volmer N.Y. Acad. Press 1961 p. 61



- 124- Ravaud C. : Pathologie et Biol. - 7 : 1299 (1959).
- 125- Warter J. et Schwartz J. : id. p. 1303.
- 126- Bloch-Michel H. et Brizard J. : id. p. 1309.
- 127- De Gennes J. L. et Fauvert R. : id. p. 1337.
- 128- Tubiana M. et Valles G. : id. p. 1327.
- 129- Gilbert-Dreyfus : id. p. 1255.
- 130- Gilbert-Dreyfus, Zara M., Savoie J. C., Sebacun J. et Cali P. :  
Ann. Endocrino - 20 : 397 (1959).
- 131- Decourt J., Guerin M. T., Michard J. P., De Gennes J. L. :  
Ann. Endocrino - 20 : 399 (1959).
- 132- Miller G., Jacquet-Francillon M. L., Roux H. et Vague J. :  
Ann. Endocrino - 20 : 518 (1959).
- 133- De Gennes J. L., Laudat P., Baillet J., Bricaire H. et  
De Gennes L. : id. p. 467.
- 134- De Gennes J. L., Bricaire H. et De Gennes L. : Ann. Endocrino  
- 21 : 846 (1960).
- 135- Miller C., Taranger J. M., Crevt A., Desribit R. et Wagner J. :  
Ann. Endocrino - 22 : 87 (1960).
- 136- Schumacker O. P. et King J. W. Cleveland Clinic Quarterly : -  
27 : 28 (1960).
- 137- Wagner H. N. Jr., Nelp W. B. et Watts J. C., Bull Johns Hopkins  
Hospi. - 108 : 161 (1961).
- 138- De Gennes J. L., H. Bricaire et De Gennes L. Bull. Soc. Med.  
Hôpitaux de Paris 76 : 1098 - (1960).

-----



- CONCLUSION -

-----

La fixation érythrocytaire de  $I_{131}T_3$ , examen qui commence à prendre sa place dans les laboratoires (U.S.A., Pays Scandinaves), dépend d'un équilibre physique entre érythrocytes et protéines sériques qui lient les hormones thyroïdiennes circulantes.

Le rôle des érythrocytes est passif, à moins de désordre hématologique. Le sérum est l'élément primordial.

La technique de cette épreuve est relativement simple, à condition de prendre certaines précautions signalées dans cet ouvrage.

L'épreuve ainsi réalisée est reproductible aisément et elle est aussi discriminative.

Si elle n'a pas remplacé les autres épreuves complètement, elle peut leur être comparée favorablement. Son avantage principal réside dans le fait que l'administration d'iode ne l'affecte en rien.

Comme tous les autres examens de laboratoire, celui-ci requiert également l'esprit critique et ce discernement du médecin qu'ils n'ont pas encore remplacés.

Le Président du Jury de Thèse :

Le Doyen de la Faculté de  
Médecine de PARIS :

Le Recteur de l'Académie de  
PARIS, Président du Conseil de l'Uni-  
versité :



BENMILOUD Moulay



Contribution à l'étude de la fixation de la triiodothyronine marquée  
à  $I^{131}$  par les érythrocytes

VU  
LE DOYEN  
*lucy*

Président : Pr. M. DEPARIS

VU  
et FERMÉ  
LE RECTEUR  
DE L'ACADÉMIE DE PARIS

*lucy*





